

17 JAN 1975 Pr 126

Bibliothèque de la
Station Centrale de
BIOCLIMATOLOGIE

Annales

de

l'amélioration des plantes

Trimestriel

1975

Vol. 25 . N° 2

inra

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

Ann. Amélior. Plantes, AAPLAS 25 (2) 85-232 (1975)

ISSN 0000-0000

AP25.2

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

149, rue de Grenelle, 75007 PARIS Tél. : 551-41-09.

Directeur général : R. FÉVRIER

Directeur général adjoint : J. POLY

Inspecteurs généraux : E. BILIOTTI, P. BOUVAREL, C. CALET, A. CAUDERON,
G. FAUCONNEAU, P. MORNET, R. PÉRO, J. REBISCHUNG

Rédaction des Annales

Pour l'ensemble des Séries : J. POLY

Annales agronomiques.

- J. CHAUSSIDON, Chef du Département de Science du Sol, C. N. R. A.
- L. GACHON, Chef du Département d'Agronomie, 63100 Clermont-Ferrand
- M. HALLAIRE, Chef du Département de Bioclimatologie, C. N. R. A.

Annales de l'Amélioration des Plantes.

- M. RIVES, Chef du Département de Génétique et d'Amélioration des Plantes, I. N. R. A.,
11, rue Jean-Nicot, 75007 Paris.

Annales de Phytopathologie.

- J. PONCHET, Chef du Département de Pathologie végétale, 06602 Antibes.

Annales de Zoologie - Écologie animale.

- E. BIBLIOTTI, Inspecteur général de la Recherche agronomique.

Annales de Zootechnie.

- A.-M. LEROY, Professeur honoraire à l'Institut national agronomique.
- A. RÉRAT, Chef du Département de Nutrition, C. N. R. Z.

Annales de Technologie agricole.

- P. DUPUY, Chef du Département de Technologie des Produits végétaux, 21034 Dijon Cedex.
- A. GUILBOT, Directeur de la Station de Biochimie et Physico-Chimie des Céréales et de leurs Dérivés C. E. R. D. I. A., Le Noyer-Lambert, 91300 Massy.
- B. L. DUMONT, Directeur du Laboratoire de Recherches sur la Viande, C. N. R. Z.

Annales de Biologie animale, Biochimie, Biophysique.

- G. FAUCONNEAU, Inspecteur général de la Recherche agronomique.
- A. FRANÇOIS, Directeur de Recherche à l'I. N. R. A., Directeur du Centre national de Coordination des Études et Recherches sur la Nutrition et l'Alimentation.
- C. THIBAUT, Chef du Département de Physiologie animale, C. N. R. Z.

Annales des Sciences forestières.

- P. BOUVAREL, Inspecteur général de la Recherche agronomique, Chef du Département de Recherches forestières, C. N. R. F.
- J.-P. CHESNEAU, École nationale du Génie rural, des Eaux et des Forêts, 54000 Nancy.
- J. PARDE, Directeur de la Station de Sylviculture et de Production, C. N. R. F.

Annales de Génétique et de Sélection animale.

- P. MÉRAT, Directeur de la Station de Génétique factorielle, C. N. R. Z.
- B. VISSAC, Chef du Département de Génétique animale, C. N. R. Z.

Apidologie (Revue franco-allemande, co-édition I. N. R. A.-Deutscher-Imkerbund).

- J. LOUVEAUX, Directeur de la Station de Recherches sur l'Abeille et les Insectes sociaux
91440 Bures sur Yvette.

Annales de Recherches vétérinaires.

- P. MORNET, Inspecteur général de la Recherche agronomique
- P. LARVOR, Directeur de la Station de Physiopathologie de la Nutrition, Saint Genès
Champagnelle, 63110 Beaumont.

Annales d'Hydrobiologie

- C. THIBAUT, Chef du Département de Physiologie animale, C. N. R. Z.
- J. LECOMTE, Chef du Département d'Hydrobiologie, C. N. R. A.

ADMINISTRATION ET SECRÉTARIAT DE LA RÉDACTION

Services des Publications de l'I. N. R. A., route de Saint-Cyr, 78000 VERSAILLES, Tél. : 950-75-22

annales
de
l'amélioration
des plantes

Trimestriel

1975

Vol. 25 . N° 2

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

Reproduction, même partielle, interdite sans autorisation des auteurs
et de l'Institut national de la Recherche agronomique
à l'exception des résumés

ACTION COMPARÉE DES GIBBÉRELLINES ET DE L'INCISION ANNULAIRE SUR LA FRUCTIFICATION DU CLÉMENTINIER EN CORSE (1)

L. BLONDEL

avec la collaboration technique de F. VITTORI et C. JACQUEMOND

Station de Recherches agrumicoles de San Giuliano, (I. N. R. A.-I. F. A. C.)
20230 San Nicolao

RÉSUMÉ

Les conditions écologiques de la Corse sont généralement favorables à une bonne fructification du Clémentinier.

Cependant, dans certains cas, une amélioration quantitative de la production paraît souhaitable compte tenu de la potentialité des arbres (développement, vigueur,...).

En 1971-72, les traitements suivants ont été mis en comparaison : acide gibbéréllique à 10 p.p.m. (deux traitements), incision annulaire double, acide gibbéréllique + incision et témoin sans traitement.

Tous les traitements ont un effet significatif et favorable sur la fructification.

Sur le calibre des fruits l'acide gibbéréllique exerce une légère action dépressive alors que l'incision se révèle sans effet.

De nouvelles expériences, dont les résultats sont rapportés, ont été réalisées en 1972-73 dans le but de confirmer ces premiers résultats et de connaître l'arrière action de l'acide gibbéréllique et de l'incision.

I. — INTRODUCTION

Dans les plantations d'agrumes de Corse, le Clémentinier (*Citrus clementina* HORT. ex. TAN.) occupe la première place. Sur les 3 000 ha d'agrumes de l'île, 2 500 ha environ, soit 83 p. 100 des superficies totales, lui sont consacrés.

D'une manière générale, la mise à fruits de cette espèce, qualifiée souvent de capricieuse dans les autres pays producteurs, se révèle satisfaisante sous les

(1) Texte d'une communication présentée au 1^{er} Congrès Mondial de l'Agumiculture, Murcie-Valence, 28 avril au 10 mai 1973.

conditions écologiques de la Corse. D'après une étude de CASSIN (1970) portant sur 37 vergers étudiés de 1963 à 1968, les rendements progressent de la manière suivante :

<i>année</i>	<i>t/ha</i>	<i>année</i>	<i>t/ha</i>
—	—	—	—
1 ^{re}	0	6 ^e	6,8
2 ^e	0	7 ^e	9,4
3 ^e	1,1	8 ^e	13,2
4 ^e	3,7	9 ^e	19,2
5 ^e	4,9	10 ^e	25,3

On attribue ces résultats en premier lieu à l'influence maritime qui tempère le climat, mais aussi à la culture de clones naturellement fertiles, à la nature du sol et aux techniques culturales utilisées.

Cependant, plusieurs vergers de clémentiniers, sans être totalement improductifs, ne fournissent pas les rendements que l'on pourrait escompter compte tenu du bon état végétatif apparent des arbres.

En attendant la mise au point de techniques appropriées pour remédier à cette faible productivité relative, la Station de Recherches agrumicoles a expérimenté certains artifices de mise à fruit : la pratique de l'incision annulaire et l'emploi de l'acide gibbérellique. Cette dernière substance avait été expérimentée de 1964 à 1968 sans grand succès, en vue d'induire la parthénocarpie (BLONDEL et BALESTRIERI, 1961 ; BLONDEL *et al.*, 1967) et de 1969 à 1971 dans le but de retarder la coloration des clémentines et de lutter contre certaines altérations de sénescence des fruits (BLONDEL, 1972).

En 1971 et en 1972, les expériences ont eu pour but d'améliorer la production du Clémentinier. Il a semblé utile de vérifier, sous les conditions de la Corse, si les effets bénéfiques des gibbérellines, signalés par plusieurs auteurs, pouvaient se manifester également dans ce pays (SOOST, 1958 ; DEL RIVERO, 1966 ; SPINA, 1968 ; BERTIN, 1969 ; DAMIGELLA, 1970 ; KREZDORN, 1971 ; VENDERWEYEN, 1972).

II. — MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. — Essais 1971

Espèce. Clémentinier, clone S. R. A. 15 (indemne de viroses connues).

Porte-greffe. Bigaradier (*Citrus aurantium* L.)

Plantation. Mars 1966 à 6 × 4 m en courbes de niveau (parcelle C 5).

Dispositif expérimental.

— 4 traitements (un arbre par parcelle élémentaire) :

- 1 : Témoin ;
- 2 : acide gibbérellique à 10 p.p.m. (2 traitements) ;
- 3 : incision annulaire double ;
- 4 : incision + acide gibbérellique ;

— 12 répétitions.

Dates des pulvérisations d'AG et des incisions.

La 1^{re} pulvérisation et la 1^{re} incision ont été effectuées le 1^{er} juin 1972 au moment de la pleine floraison (50 p. 100 des fleurs épanouies), la 2^e pulvérisation et la 2^e incision, (le 15 juin 1972, à la fin de la floraison (10 p. 100 environ de fleurs encore épanouies)).

Il convient de noter qu'en 1971 la floraison s'est produite plus tardivement que de coutume. Il s'agissait en effet d'une seconde floraison ; la première avait été détruite par un gel à $-4,3^{\circ}\text{C}$ sous abri, les 6 et 7 mars 1971.

Produit : Acide gibbéréllique en comprimés dosés à 1 g.

— Dose : 10 p.p.m. (1 g pour 100 l d'eau) + un mouillant non-ionique, neutre, sans mousse à 25 ml pour 100 l.

— Quantité par arbre : 4 litres de solution soit 40 mg d'AG par arbre et par pulvérisation = 80 mg d'AG en deux pulvérisations.

Incision annulaire (sans enlèvement d'écorce, 1 mm de largeur, profondeur : celle de l'aubier, soit 2 ou 3 mm) effectuée à l'aide d'une roulette spéciale, sur le tronc, la 1^{re} à environ 15 cm au-dessus du point de greffe, la seconde à 5 cm au-dessous de la première.

Analyse des jus (pourcentage de jus, extrait soluble, acidité) : le 16-11-1971.

Cueillette et observations échelonnées du 16-11 au 28-12-71.

2. — *Essais 1972*

Cinq types d'essais ont été réalisés dans la même parcelle que précédemment (C 5). L'acide gibbéréllique et l'incision annulaire ont été mis en œuvre dans les mêmes conditions qu'en 1971.

a) *Essai de confirmation des résultats 1971.*

De nouveaux arbres semblables à ceux qui avaient été soumis à l'essai 1971 ont été retenus pour cet essai.

Dispositif :

- 4 traitements (comme en 1971) ;
- 6 répétitions.

Dates des pulvérisations d'AG et des incisions annulaires :

- 1^{re} pulvérisation et 1^{re} incision : 2 mai 1972 ;
- 2^e — et 2^e — : 17 mai 1972.

Cueillette et observations échelonnées du 15-11 au 18-12-72.

b) *Essai sur l'étude de l'arrière action de l'AG et de l'incision annulaire.*

Six arbres sur les 12 soumis à l'essai 1971 n'ont reçu aucun traitement en 1972.

Dispositif :

- 4 traitements en 1971, mais aucun en 1972 ;
- 6 répétitions.

Cueillette et observations aux mêmes dates que ci-dessus.

c) *Reconduction en 1972 de l'essai 1971 sur les mêmes arbres.*

Les autres six arbres sur 12 soumis à l'essai 1971 ont été traités à l'AG ou incisés à nouveau en 1972.

Dispositif :

- 4 traitements (comme en 1971) ;
- 6 répétitions.

Dates des pulvérisations et des incisions, cueillette et observations : comme en (a) ci-dessus.

d) *Essai sur le nombre et l'époque des traitements à l'AG.**Dispositif:*

— 4 traitements (1 arbre par parcelle élémentaire) :

- 1 : Témoin ;
- 2 : 2 traitements à l'AG (le 1^{er} en pleine floraison, le second vers la fin de la floraison ;
- 3 : 1 seul traitement à l'AG en pleine floraison ;
- 4 : 1 seul traitement à l'AG à la fin de la floraison ;

— 4 répétitions.

Dates des pulvérisations.

Pulvérisation pleine floraison : 9 mai 1972 ;

Pulvérisation fin de floraison : 19 mai 1972.

Cueillette et observations, comme (a) ci-dessus.

e) *Essai d'une nouvelle substance de croissance sur la fructification du Clémentinier.*

Un composé appartenant au groupe des substances de croissance primaires à base de α -chlor- β -(3 chloro-o-Tolyl) propionitrile (en abrégé : CCTP) a été expérimenté comparativement à l'acide gibbérellique.

Dispositif:

— 4 traitements (1 arbre par parcelle élémentaire) :

- 1 : Témoin ;
- 2 : CCTP à forte dose, 3 pulvérisations : la 1^{re} en pleine floraison, le 5-5-72 à 1 000 p.p.m. de matière active ;
la 2^e, 20 jours après, le 24-5-72 à 100 p.p.m. de matière active,
la 3^e, 10 jours après, le 3-6-72 à 100 p.p.m. de matière active ;
- 3 : CCTP à faible dose : 100 p.p.m. à chacune des 3 pulvérisations effectuées aux mêmes dates que ci-dessus ;
- 4 : acide gibbérellique à 10 p.p.m., 2 pulvérisations les 2-5-72 et 19-5-72.

— 5 répétitions.

Dans les deux cas (CCTP) ou AG) adjonction d'un mouillant non-ionique, neutre, sans mousse à 25 ml pour 100 l.

Cueillette et observations échelonnées du 15-11 au 18-12-1972.

III. — RÉSULTATS ET DISCUSSION

I. — *Essai 1971* (tabl. 1)

L'examen du tableau 1 permet de tirer les conclusions suivantes :

Les meilleurs rendements sont obtenus quand on utilise à la fois l'AG et l'incision ; l'AG seul améliore la production de 67 p. 100, l'incision seule de 92 p. 100, les deux combinés de 138 p. 100.

L'AG a un effet significatif défavorable sur le poids moyen des fruits (réduction de 13 p. 100), par contre l'incision se révèle sans effet.

Dans l'ensemble, les effets gibbérelline et incision sont additifs, ce qui se vérifie par le fait qu'il n'y a pas d'interaction.

Tous les traitements induisent une réduction significative du nombre de pépins par fruit.

TABLEAU I

Effets de l'acide gibbérellique et de l'incision annulaire sur la fructification du Clémentinier (essai 1971) ⁽¹⁾

Critères étudiées	Traitements				Différences avec le témoin			P.p.d.s.	
	1 Témoin	2 AG	3 Incision	4 AG + incision	AG kg %	Incision kg %	AG + Incision kg %	5 %	1 %
Récolte par arbre (kg)	14,4	24,3	27,8	34,4	+ 9,9** = + 67 %	+ 13,4** = + 92 %	+ 20** = + 138 %	4,6	6,2
Poids moyen d'un fruit (g)	58,3	50,8	57,8	49,4	— 7,5** = — 13 %	NS	— 8,9** = — 15 %	4,2	5,7
Nombre de pépins par fruit	2,45	1,19	1,71	1,05	— 1,26** = — 51 %	— 0,74** = — 30 %	— 1,40** = — 57 %	0,34	0,46
Teneur en jus (%)	43,7	45,1	46,3	45,8	NS	NS	NS		
Extrait soluble (%)	9,8	9,8	10,0	10,3	NS	NS	NS		
Acidité (%)	1,34	1,30	1,33	1,33	NS	NS	NS		
E/A	7,4	7,6	7,6	7,8	NS	NS	NS		

** : Différence significative à $P = 1$ p. 100.NS : Différence non significative, même à $P = 5$ p. 100.⁽¹⁾ Interprétation statistique avec le concours de P. Lossors, Chef du Service de Biométrie de l'I. F. A. C., Paris.

La composition interne du fruit (teneur en jus, extrait soluble, acidité) n'est modifiée, ni par l'AG, ni par l'incision annulaire.

La végétation des arbres soumis à l'expérience a été nettement influencée par les traitements : les arbres incisés n'ont pratiquement pas émis de jeunes rameaux en 1972, alors que les arbres traités à l'AG ont continué à en émettre, moins cependant que les arbres témoins. Dans tous les cas il s'agit de rameaux dont la présence est recherchée ; ils sont émis normalement au cours des divers flux végétatifs des agrumes.

2. — Essais 1972

a) Essai de confirmation des résultats 1971.

Les résultats des essais 1972 obtenus dans des conditions particulières (floraison très tardive) étaient hautement significatifs.

En 1972 il s'est agi, par une répétition dans le temps, de vérifier la constance des résultats sur des arbres fleurissant à une époque normale (tabl. 2).

TABLEAU 2

Effets de l'AG et de l'incision annulaire sur la fructification du Clémentinier (essai 1972)

Critères étudiées	Traitements				P.p.d.s.	
	1 Témoin	2 AG	3 Incision	4 AG + Incision	5 %	1 %
Récolte par arbre (kg).....	28,5	40,8	31,6	40,4		
Différence avec { kg		+ 12,3*	+ 3,1NS	+ 11,9*	8,0	15,2
le témoin { %		+ 43 %	+ 10 %	+ 42 %		
Poids moyen d'un fruit (g).....	62,9	57,3	61,3	55,4		
Différence avec { g		— 5,6*	— 1,6NS	— 7,5	4,2	8,1
le témoin { %		— 9%	— 2,5 %	— 12 %		

* : Différence significative à $P = 5$ p. 100.

NS : Différence non significative.

L'AG provoque, cette année encore, une amélioration très sensible des rendements, mais inférieure à celle de 1971 en raison, vraisemblablement, d'une productivité générale plus élevée qu'en 1971.

L'incision annulaire se révèle, cette année, pratiquement inefficace en raison, semble-t-il, de la technique opératoire employée (incision moins profonde qu'en 1971).

Comme l'année dernière l'AG provoque une réduction du poids moyen des fruits (— 9 p. 100 à — 12 p. 100).

La composition chimique du jus ne subit aucune modification significative quel que soit le traitement. Il a semblé inutile de mentionner les chiffres dans ce tableau.

b) Essai sur l'étude de l'arrière action de l'AG et de l'incision annulaire.

Des clémentiniers traités à l'AG ou incisés en 1971 ont été simplement observés en 1972 sans subir de nouveaux traitements.

Le but à atteindre était de mettre en évidence la réaction des arbres après les traitements 1971 qui avaient considérablement augmenté la production (tabl. 3).

TABLEAU 3

Production 1972 d'arbres traités à l'AG et incisés en 1971, mais non en 1972

Critères étudiées	Traitements en 1971 seulement				P.p.d.s.	
	1 Témoïn	2 AG	3 Incision	4 AG + Incision	5 %	1 %
<i>Récolté par arbre (kg) :</i>						
- 1972	26,2	34,3	22,0	31,3		
Différence avec le témoïn { kg		+ 8,1NS	- 4,2NS	+ 5,1NS	13,9	26,6
%		+ 30 %	- 16 %	+ 19 %		
- 1971	15,4	22,6	28,3	37,9		
Différence avec le témoïn { kg		+ 7,2*	+ 12,9**	+ 22,5**	6,7	12,8
%		+ 47 %	+ 83 %	+ 145 %		
Récolte 1972 comparée à celle de 1971 { kg	+ 10,8	+ 11,7	- 6,3	- 6,6		
%	+ 70 %	+ 52 %	- 22 %	- 17 %		
<i>Poids moyen d'un fruit en 1972 (g) ..</i>						
	63,9	66,5	62,7	56,9		
Différence avec le témoïn { g		+ 2,6NS	- 1,2NS	- 7,0*	7,0	12,8
%		+ 4 %	- 2 %	- 11 %		

* : Différence significative à P = 5 p. 100.

** : Différence significative à P = 1 p. 100.

NS : Différence non significative.

L'examen du tableau 3 appelle les commentaires suivants :

Après avoir conféré une augmentation spectaculaire des rendements en 1971 (AG seul + 47 p. 100, incision + 83 p. 100, AG + incision + 145 p. 100), l'AG et l'incision exercent différemment leur influence sur la récolte de l'année suivante en l'absence de répétition des traitements.

Bien que les différences ne soient pas significatives, on constate néanmoins que les arbres traités à l'AG en 1971, mais non en 1972 produisent encore plus, en 1972, que les témoins (+ 8 p. 100) mais si l'on compare l'augmentation générale des rendements entre 1971 et 1972, on constate que les effets de l'AG sont négligeables la 2^e année. D'une année à l'autre la récolte des témoins augmente de 70 p. 100, celle des arbres traités à l'AG de 52 p. 100. Cela paraît normal compte tenu de l'augmentation très importante des rendements que cette substance avait produits en 1971 (+ 47 p. 100).

Il semble donc que l'AG n'agisse que sur la récolte immédiatement postérieure au traitement.

Par contre l'incision annulaire, très efficace la première année, ramène les rendements, l'année suivante, au niveau de ceux du témoin, Il y a même un effet dépressif qui, bien que non significatif, s'élève à 16 p. 100. Par rapport à 1972, la récolte des arbres incisés diminue de 22 p. 100.

Le poids moyen des fruits n'est pas affecté par l'AG, contrairement à ce que l'on observe la première année. L'incision annulaire agit défavorablement à la fois sur le rendement et sur le poids moyen des fruits.

c) *Reconduction en 1972, de l'essai 1971 sur de mêmes arbres.*

Des arbres ont été traités à l'AG ou incisés deux années consécutives dans le but de connaître la réaction des clémentiniers soumis à ces traitements répétés (tabl. 4).

TABLEAU 4

Production de clémentiniers traités à l'AG ou incisés deux années consécutives

Critères étudiés	Traitements en 1971 et 1972				P.p.d.s.	
	1 Témoin	2 AG	3 Incision	4 AG + Incision	5 %	1 %
<i>Récolte par arbre (kg)</i>						
- 1972	29,6	40,7	31,0	41,2		
Différence avec { kg		+ 11,1*	+ 1,4NS	+ 11,6*	10,1	19,2
le témoin { %		+ 37 %	+ 4,8 %	+ 39 %		
- 1971	13,5	26,6	26,8	35,3		
Différence avec { kg		+ 13,1*	+ 13,3*	+ 21,8*	9,3	17,7
le témoin { %		+ 97 %	+ 98 %	+ 161 %		
Récolte 1972 comparée { kg	+ 16,1	+ 14,1	+ 4,2	+ 5,9		
à celle de 1971 { %	+ 119 %	+ 53 %	+ 16 %	+ 17 %		
<i>Poids moyen d'un fruit en 1972 (g) ..</i>	64,4	60,6	54,6	54,7		
Différence avec { g		- 3,8NS	- 9,8*	- 9,7*	8,7	
le témoin { %		- 6 %	- 15 %	- 15 %		

* : Différence significative à P = 5 p. 100.

** : Différence significative à P = 1 p. 100.

NS : Différence non significative.

L'examen du tableau 4 permet de conclure que l'AG appliqué deux années consécutives améliore encore significativement les rendements à la deuxième année (+ 37 p. 100 à + 39 p. 100) sans réduire gravement le poids moyen des fruits (- 6 p. 100).

L'incision annulaire ne produit pratiquement plus d'effet sur les rendements de l'année qui suit la deuxième incision consécutive (+ 4,8 p. 100), mais son action défavorable sur le calibre des fruits se fait nettement sentir (réduction de 15 p. 100).

Cette absence d'effet sur les rendements et l'action dépressive sur le calibre des fruits doivent être imputées à une amélioration trop importante du rendement la première année (+ 98 p. 100). Il en est résulté un affaiblissement des arbres (absence de végétation nouvelle en 1971) alors que la croissance s'est peu ralentie sur les arbres traités à l'AG.

d) *Essai sur le nombre et l'époque des traitements à l'AG.*

Deux traitements fournissent incontestablement de bons résultats (voir tableau 1 (1971) et tableau 2 (1972)).

Sur le plan économique, un seul traitement ne serait-il pas suffisant ? Dans le but de pouvoir répondre à cette question a été réalisé un essai dont les résultats figurent dans le tableau 5.

TABLEAU 5

Effets de l'AG en fonction du nombre et de l'époque des traitements

Critères étudiés	Traitements				P.p.d.s.	
	1 Témoin	2 AG 2 trai- tements	3 AG 1 trai- tement pleine floraison	4 AG 1 trai- tement fin de floraison	5 %	1 %
Récolte par arbre (kg)	21,4	34,0	32,1	27,4		
Différence avec le témoin { kg		+ 12,6*	+ 10,7*	+ 6,0 NS	8,1	17,2
%		+ 59 %	+ 50 %	+ 28 %		
Poids moyen d'un fruit (g)	64,4	51,9	56,7	59,9		
Différence avec le témoin { kg		— 12,5*	— 7,7**	— 4,5*	3,3	6,5
%		— 19 %	— 12 %	— 7 %		

* : Différence significative à P = 5 p. 100.

** : Différence significative à P = 1 p. 100.

NS : Différence non significative.

Les résultats de cet essai (tabl. 5) présentent un grand intérêt. Un seul traitement à l'AG effectué en pleine floraison donne presque d'aussi bons rendements que deux traitements. Compte tenu du prix de cette substance, il n'y a pas avantage à traiter deux fois. Des expériences ultérieures sont prévues afin de confirmer ce résultat. Un seul traitement à la fin de la floraison se révèle sans aucune efficacité pratique.

Comme dans la plupart des cas, l'AG provoque une réduction significative du calibre des fruits, même lorsqu'il est utilisé à la fin de la floraison.

e) *Essai d'une nouvelle substance de croissance sur la mise à fruits du Clémentinier.*

Le nouveau produit expérimenté, le CCTP (voir chapitre II, 2, e) n'a induit aucune amélioration significative des rendements :

Témoin	19,5 kg/arbre
AG (2 traitements)	31,2 kg/arbre : + 60 p. 100
CCTP (faible dose)	21,9 kg/arbre : + 12 p. 100
CCTP (forte dose)	19,4 kg/arbre : — 0,5 p. 100

Un phénomène inattendu, qui motive la présentation de cet essai, a été observé : une proportion importante de fruits produits par les arbres traités (5 à 13 p. 100) possèdent des styles persistants.

IV. — CONCLUSIONS

Les essais réalisés à la S. R. A. en 1971 et en 1972 ont mis en évidence l'efficacité de l'acide gibbérellique (AG) sur la mise à fruits du Clémentinier.

La dose utilisée, 10 p.p.m. semble convenable.

Deux traitements effectués, l'un en pleine floraison, l'autre 15 jours après, donnent les meilleurs résultats. Cependant il semble qu'un seul traitement, en pleine floraison, soit suffisant, compte tenu du prix du produit. Des expériences ultérieures sont prévues afin de vérifier ces premières observations.

D'après les travaux dont les résultats viennent d'être rapportés, l'AG n'agirait que sur la récolte suivant immédiatement le traitement qui, en conséquence, doit être renouvelé tous les ans. En tout cas, aucun effet dépressif sur les rendements des arbres n'est observé deux ans après un traitement.

Dans presque tous les essais réalisés, l'AG provoque une réduction notable du calibre des fruits. Il s'agit d'un inconvénient assez grave chez le Clémentinier dont la propension à donner une forte proportion de petits fruits est bien connue. Pour obvier à cet inconvénient il faut absolument veiller au bon entretien des plantations traitées avec cette substance : irrigation, taille, fumure.

En aucun cas l'AG n'a modifié la composition chimique des fruits.

L'incision annulaire se révèle très efficace la première année, mais provoque de graves effets dépressifs les années suivantes. Il semble que cet artifice doive être utilisé avec circonspection.

Enfin un produit nouveau (le CCTP) se révèle sans effet sur les rendements mais induit la formation de fruits à styles persistants.

En 1973-74 il est envisagé de nouveaux essais en vue de préciser le nombre de traitements nécessaires et la dose la plus efficace si l'on ne réalise qu'un seul traitement (10 ou 12 ou 15 p.p.m.).

Reçu pour publication en mars 1973.

SUMMARY

COMPARED ACTION OF GIBBERELLINS
AND ANNULAR INCISION ON THE FRUCTIFICATION
OF THE CLEMENTINE IN CORSICA

Corsica's ecological conditions are generally favourable to the good fructification of the Clementine.

In certain cases, however, a quantitative improvement in production appears desirable, taking into account the trees' potentiality (development, vigour, ...).

In 1971-1972, the following treatments were compared : gibberellic acid at 10 ppm (two treatments), double annular incisions, gibberellic acid + incision and control without treatment.

All the treatments have a significant and favourable effect on fructification.

Gibberellic acid has a slightly depressive action upon size of fruits, whereas incision has no effect on fruit size.

Further experiments, the results of which are reported, were carried out in 1972-1973, with the object of confirming the first results and gaining knowledge on the after-effect of gibberellic acid and incision.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BERTIN A., 1969. Quelques résultats d'essais sur l'acide gibbérellique. *Maroc-fruits*, 331, mars 1969, 1-3.
- BLONDEL L., BALESTRIERI L., 1961. Essai de gibbérelline sur la fructification du Clémentinier et de l'Oranger « Washington navel ». *Rapport d'expérimentation*, année 1960, *Station expérimentale d'Agrumiculture de Boufarik*, Algérie, 72-74.
- BLONDEL L. et al., 1967. Induction de la parthénocarpié chez le Clémentinier « Wise », le Pomelo « Duncan » et le Mandarinier « Wilking ». *Rapport annuel d'activités 1965-1966 de la Station de Recherches Agrumiculture de Corse*, 44-45.
- BLONDEL L., 1972. Utilisation de l'acide gibbérellique en vue de retarder la coloration des clémentines et de lutter contre certaines altérations des fruits (Water spot). *Fruits*, 27, 185-192.
- CASSIN J., 1970. Études générales des techniques culturales pratiquées dans 34 vergers de clémentiniers de Corse. *V^o colloque de la comm. agrotech. du C. L. A. M.*, Bastia, 12-14 mai 1969, 7 p.
- DAMIGELLA P., TRIBULATO E., CONTINELLA G., 1970. Prove comparative con acido gibberellico, incisione anulare e concimazione fogliare su clementine (*Citrus clementina* HORT.). *Tech. agric.*, 22 (5), 508-525.
- DEL RIVERO J. M., VEYRAT P., 1966. Nota sobre posibilidades de aumento del cujado de la clementine. *Levante agricola*, n° 52.
- KREZDORN A. H., BROWN H. D., 1971. Increasing yields of the « Minneola », « Robinson » and « Osceola » varieties with gibberellic acid sprays and girdling. *Proc. 83rd ann. Meet. Flor. St. hort. Soc.*, 29-34.
- SPINA P., 1968. Prove sull' efficacia del G. A. e della incisione anulare sull' arancio « Ovale ». *Tec. agric.*, 20, n° 3, 201-217.
- SOOST R. K., 1958. Gibberellic acid on mandarin. *Calif. Agric.*, 12, n° 5, mai p. 5.
- SOOST R. K., BURNETT R. H., 1961. Effects of gibberellin on yield and fruit characteristics of clementine mandarin. *Proc. Amer. Soc. hort. Sci.*, 77, 194-201.
- VANDERWEYEN A., ELFALI A., 1972. Résultats de traitements à l'AG du Clémentinier après deux années d'expérimentation. *Assoc. des prod. d'agrum. du Maroc*, Casablanca, fév. 1972, 14 p.

MISE EN ÉVIDENCE DE SUBSTANCES ANALOGUES AUX GIBBÉRELLINES ET D'INHIBITEURS CHEZ LE POMMIER (*MALUS PUMILA*) ⁽¹⁾

I. — MÉTHODOLOGIE

M. DURON et C. BRIAN

avec la collaboration technique de Christiane GAIRE*

*Station de Recherches d'Arboriculture fruitière, I. N. R. A.,
Beaucouzé, 49000 Angers*

** Laboratoire de Recherches fondamentales de Physiologie végétale,
49000 Angers*

RÉSUMÉ

Diverses méthodes d'extraction et de séparation de substances de croissance produites par les racines de porte-greffes clonaux du Pommier ont été comparées. La lyophilisation des pointes de racine, suivie d'une extraction par le chlorure de méthylène, a donné les meilleurs résultats dans la recherche de substances de type gibbéréllique.

I. — INTRODUCTION

L'arbre fruitier est presque toujours un individu composite qui résulte de l'association de deux génotypes : le porte-greffe, qui comporte le système racinaire et une partie plus ou moins importante du tronc, et la variété qui constitue l'essentiel de la partie aérienne et qui assure la production. Les relations physiologiques entre porte-greffe et greffon sont très mal connues, ce qui rend très empirique le travail du sélectionneur. Ainsi, actuellement, il n'existe pas de critère de sélection précoce suffisamment sûr pour des caractères aussi importants que la vigueur conférée par

⁽¹⁾ Ce travail a été réalisé dans le cadre d'un contrat de coopération passé entre l'I. N. R. A. et le Laboratoire de Recherches fondamentales de Physiologie végétale (C. N. R. S.) dirigé par M. BEAUCHESNE.

le porte-greffe à la variété, l'affinité au greffage entre les deux associés, la précocité de mise à fruits ou l'aptitude à une production régulière.

Il est vraisemblable que ces phénomènes sont directement influencés par des équilibres hormonaux complexes, dans lesquels les gibbérellines doivent jouer un rôle important. En effet, leur implication est déterminante dans de nombreux processus de croissance et de développement (DURON et BRIAN, 1973) et certaines d'entre elles (GA_3 , GA_4 et GA_7) commencent à être utilisées dans la pratique pour modifier le comportement des arbres fruitiers. D'autre part, on sait qu'elles peuvent être synthétisées en quantités relativement importantes par les jeunes racines des plantes supérieures (SITTON, RICHMOND, VAADIA, 1967 ; MURAKAMI, 1968) ce qui permet d'envisager, par leur intermédiaire, une action du porte-greffe sur la variété dans le cas d'arbres fruitiers.

On connaît actuellement une trentaine de ces hormones (PALEG, 1965 ; LANG, 1970 ; DURON et BRIAN, 1973), entre lesquelles n'existent que des différences chimiques très simples. On a pu, d'autre part, mettre en évidence l'existence d'un déterminisme génétique simple (monofactoriel) pour la biosynthèse de GA_1 et GA_4 chez *Fusarium moniliforme* (SPECTOR et PHINNEY, 1968) et l'existence d'un phénomène analogue chez le Haricot (PROANO et GREEN, 1968). Enfin, plusieurs auteurs ont signalé l'existence chez le Pommier de substances de type gibbérellique dans la sève brute et dans divers organes, les jeunes fruits en particulier.

Chez le Pommier, il existe une gamme de porte-greffes multipliés végétativement qui confèrent des caractéristiques très différentes aux variétés qu'ils portent. On a ainsi été amené à rechercher l'existence de différences qualitatives dans la production de gibbérellines par les racines d'un certain nombre de ces porte-greffes particulièrement bien connus. Ultérieurement, la caractérisation de chaque génotype par la gamme des gibbérellines produites aurait dû permettre d'établir certaines corrélations entre la production d'une gibbérelline particulière et une caractéristique physiologique de l'association greffon-porte-greffe, comme par exemple la vigueur conférée, ces connaissances étant ensuite utilisées pour choisir les géniteurs dans un programme de sélection créatrice ou pour établir des tests de sélection précoce.

La plupart des recherches effectuées sur les substances de croissance ont porté sur l'isolement et l'identification de molécules actives à partir de plantes annuelles, très peu de travaux ayant été consacrés dans ce domaine aux plantes pérennes. L'application au Pommier des principales techniques d'extraction et de séparation ainsi que l'utilisation des méthodes d'identification chimiques ou biologiques pour caractériser des génotypes n'ont donc pas pu être tentées sans que soit effectuée une importante étude méthodologique.

II. — MÉTHODES

Production du matériel végétal

La recherche des substances actives sur la croissance a été pratiquée sur de jeunes racines de 3 à 5 cm de longueur produites par des marcottes ou des boutures herbacées d'un certain nombre de clones de porte-greffes du Pommier. Ces porte-greffes ont été choisis dans la gamme des East-

Malling et des Malling-Merton en fonction de la vigueur qu'ils confèrent aux variétés et de leur état sanitaire. Compte tenu du matériel végétal disponible, six génotypes ont été retenus :

- trois conférant une vigueur modérée : M 26, M 111 et 106 ;
- trois conférant une vigueur élevée : M 25, M 109 et 104.

Après leur récolte, les marcottes ont été placées pendant 70 jours en chambre froide à 2°C, de façon à lever la dormance des bourgeons, puis placées dans du sable humide dans une serre maintenue à 15°C. Dans ces conditions, la première récolte de racines a été obtenue vingt jours après la mise en place ; elle a été suivie de trois autres espacées de 15 à 20 jours avant que les marcottes ne soient complètement épuisées. De façon à éviter toute interférence éventuelle entre les substances produites par les racines et celles qui auraient pu être synthétisées par la partie aérienne, les bourgeons ont été systématiquement éliminés dès leur débourrement.

Les boutures ont été obtenues par prélèvement de l'extrémité herbacée des marcottes au printemps, en début de végétation. Pour favoriser leur enracinement, elles ont été mises sous brouillard artificiel dans un milieu sable-perlite en proportion 1 : 1 après avoir reçu un traitement hormonal (IBA 10 000 p.p.m. en poudrage) suivant la technique mise au point à la Station d'Arboriculture d'Angers par THIBAUT et HERMANN (données non publiées). Une première récolte de racines a été obtenue un mois plus tard, suivie d'une autre de quinze à dix-huit jours après.

Préparation des extraits : extraction et purification

Seule l'extrémité méristématique des racines, soit approximativement les cinq derniers millimètres, est prélevée pour préparer les extraits. Trois méthodes différentes ont été utilisées et comparées : l'extraction après immersion dans le méthanol suivie d'un broyage, la diffusion sur gélose et, enfin, l'extraction après lyophilisation.

1. Extraction par broyage.

Lors du prélèvement, les pointes de racines ont été immergées dans du méthanol pur, de façon à éviter la dégradation des substances recherchées. Elles ont ensuite été broyées et l'extrait obtenu a été conservé pendant une nuit en chambre froide à 0°C. Le résidu solide a ensuite été séparé de la solution méthanolique par centrifugation à 15 000 g pendant 10 minutes à 2°C. Le surnageant obtenu a été conservé au froid pendant quelques jours avant de subir les processus d'extraction et de purification.

2. Extraction par diffusion.

Les pointes de racines ont été placées sur des boîtes de Petri contenant une couche de gélose à 1 p. 100 pendant 24 h à 14°C. Les racines ont alors été enlevées et les boîtes refroidies à — 20°C. Après réchauffement à la température du laboratoire (environ 20°C), l'eau a été séparée de la gélose par filtration sous vide. Sur le filtre, la gélose a ensuite été abondamment lavée par du méthanol pur de façon à extraire les substances actives et plus particulièrement les gibbérellines.

3. Extraction de la solution hydro-alcoolique.

Les deux procédés d'extraction précédents fournissent une solution hydroalcoolique dans laquelle les gibbérellines se dégradent. Il est donc indispensable de les passer rapidement en milieu anhydre.

L'alcool a donc été évaporé sous vide à 35°C. Après acidification à pH 3 par de l'acide chlorhydrique normal, la phase aqueuse a été extraite trois fois par de l'acétate d'éthyle préalablement redistillé. Ceci permet d'obtenir les gibbérellines dans la phase organique.

Ensuite, l'acétate d'éthyle a été évaporé sous vide et le résidu sec obtenu dissous dans du méthanol pur, puis conservé à 0°C.

4. Purification des extraits.

Les extraits méthanoliques résultant de l'extraction ayant toujours été fortement colorés, en particulier, lorsqu'il a été procédé à un broyage de racines, une purification s'est avérée indispensable de façon à éliminer des substances perturbant l'exécution des tests biologiques ultérieurs ou empêchant certaines identifications chimiques. Deux méthodes de purification ont donc été utilisées : la chromatographie sur couche mince et la chromatographie sur colonne.

a) *Purification par chromatographie sur couche mince.*

Une chromatographie sur une couche mince de gel de silice (silicagel-G de Merck) avec le solvant éther di-*iso*-propylique - acide acétique 95 : 5 permet une bonne migration des gibbérellines (Mac MILLAN et SUTER, 1963) tout en laissant sur la zone de départ la plus grande partie des colorants parasites. Cette technique a donc été appliquée aux extraits méthanoliques obtenus ; puis, après séchage des plaques, les gibbérellines ont été remises en solution en lavant le gel de silice sur un filtre par du méthanol pur, après élimination de la zone de départ.

b) *Purification par chromatographie sur colonne.*

La méthode suivie est analogue à celle décrite par POWELL et TAUTVYDAS, 1967. La colonne contient un mélange d'acide silicique et de célite en proportions 3 : 1. Ce mélange est soigneusement lavé avant son utilisation par plusieurs solvants : éther éthylique puis éther-acétone 1 : 1, puis éther, puis éther-hexane 1 : 1, enfin hexane pur. L'extrait à chromatographier a été placé au sommet de la colonne qui a ensuite été éluée par des concentrations croissantes de dix en dix pour cent d'acétate d'éthyle dans l'hexane, en partant d'hexane pur pour terminer par le seul acétate d'éthyle.

Les extraits les plus fortement colorés ont dû être purifiés successivement par les deux techniques. Par contre, certains extraits peu colorés ont seulement été clarifiés par chromatographie sur couche mince.

5. *Lyophilisation du matériel frais et préparation des extraits.*

L'extraction des gibbérellines après broyage des racines ou diffusion dans la gélose ne permet pas d'empêcher toute destruction des substances recherchées. On a donc tenté de limiter cette dégradation en faisant suivre immédiatement le prélèvement des pointes de racines d'une immersion dans l'azote liquide. Le matériel végétal recueilli a ensuite été conservé quelques heures à — 20°C, puis lyophilisé.

L'extraction proprement dite a été réalisée conformément à la méthode décrite par LUCKWILL *et al.* (1969). Les racines lyophilisées ont été réhydratées par un tampon phosphate à pH 4 a raison de 5 ml de tampon pour 1 g de racines. On a alors ajouté 30 ml de solvant d'extraction (chlorure de méthylène), puis les racines ont été broyées à trois reprises pendant dix minutes, le solvant étant renouvelé à chaque fois. Les trois fractions obtenues ont été réunies et le solvant évaporé. Le résidu sec a été repris par du méthanol pur. Cette méthode fournit un extrait suffisamment clair pour qu'aucune purification ne soit nécessaire.

6. *Séparation des gibbérellines.*

Suivant la procédure d'extraction et de purification adoptée, différentes méthodes de séparation ont été employées.

a) *Séparation par chromatographie sur couche mince.*

A partir des extraits méthanoliques suffisamment purifiés, une chromatographie sur un gel de silice (silicagel-G de Merck), avec une phase mobile constituée par le mélange éther di-*iso*-propylique - acide acétique 95 : 5, permet une bonne séparation de la plupart des gibbérellines (MacMILLAN et SUTER, 1963).

En fonction de la méthode d'identification utilisée, les chromatogrammes ont été, soit conservés tels quels pour révélation, soit partagés en cinq ou dix bandes correspondant respectivement à 0,2 ou 0,1 unités R_f qui ont ensuite été prélevées séparément et éluées par du méthanol pur.

b) *Séparation par chromatographie sur colonne.*

La chromatographie sur colonne de célite-acide silicique permet non seulement une purification des extraits, mais également une séparation des différentes molécules de gibbérelline en fonction de la composition du mélange d'éluion (POWELL et TAUTVYDAS, 1967). En recueillant séparément chacune des fractions correspondant à une proportion donnée d'acétate d'éthyle, on a donc opéré une séparation rendant inutile un traitement ultérieur des extraits. Il a suffi d'évaporer chaque fraction à sec et de reprendre le résidu par du méthanol pur dans le but de rechercher les substances présentes.

c) *Séparation par chromatographie sur papier.*

Elle a été pratiquée sur des extraits très peu colorés, provenant de matériel lyophilisé. La méthode est analogue à celle employée par LUCKWILL *et al.*, (1969) : chromatographie ascen-

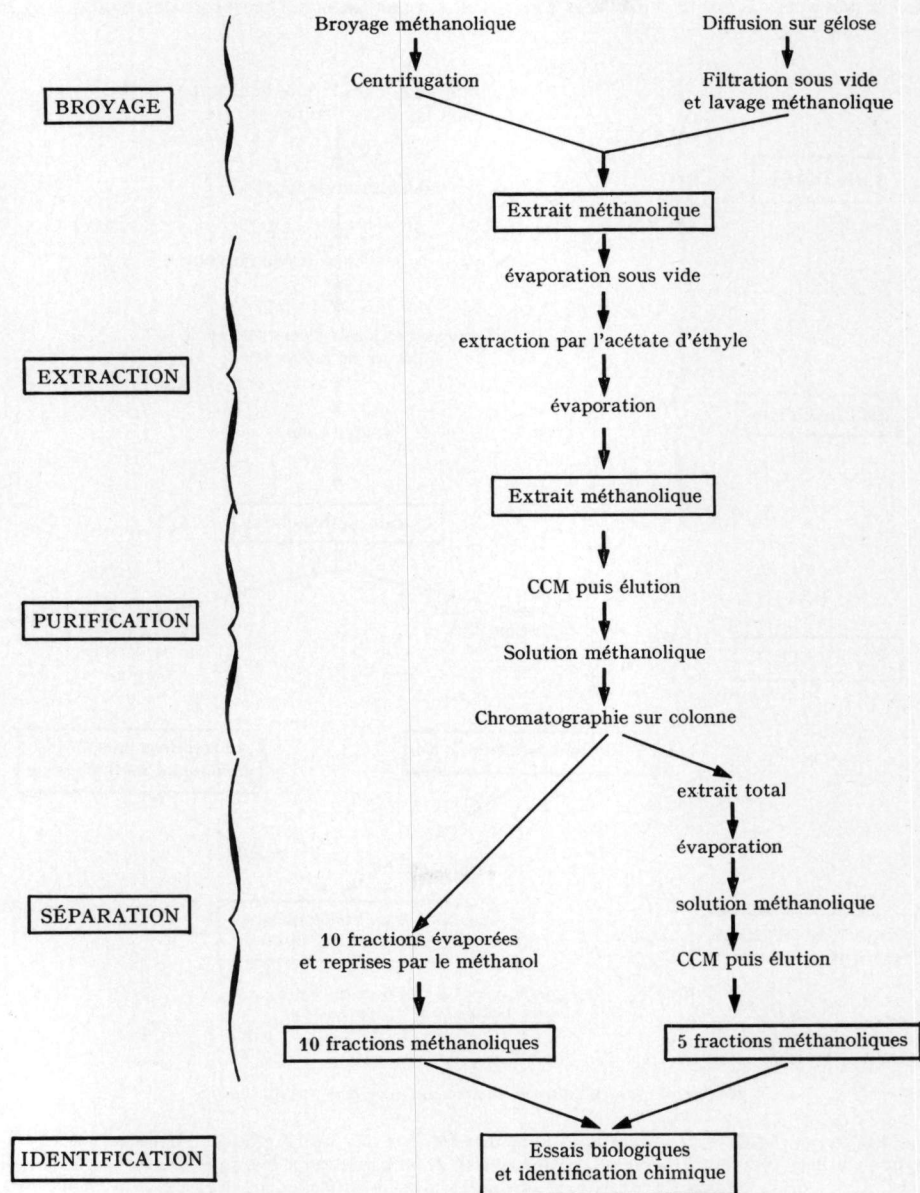


FIG. 1. — Organigramme des opérations effectuées sur les racines traitées par broyage ou diffusion

dante sur papier Whatman n° 1, le solvant étant l'eau distillée. Après qu'il ait été séché, le chromatogramme a été découpé en dix bandes couvrant la totalité de la zone de migration (20 cm).

Les différentes opérations effectuées sont résumées par les organigrammes des figures 1 et 2.

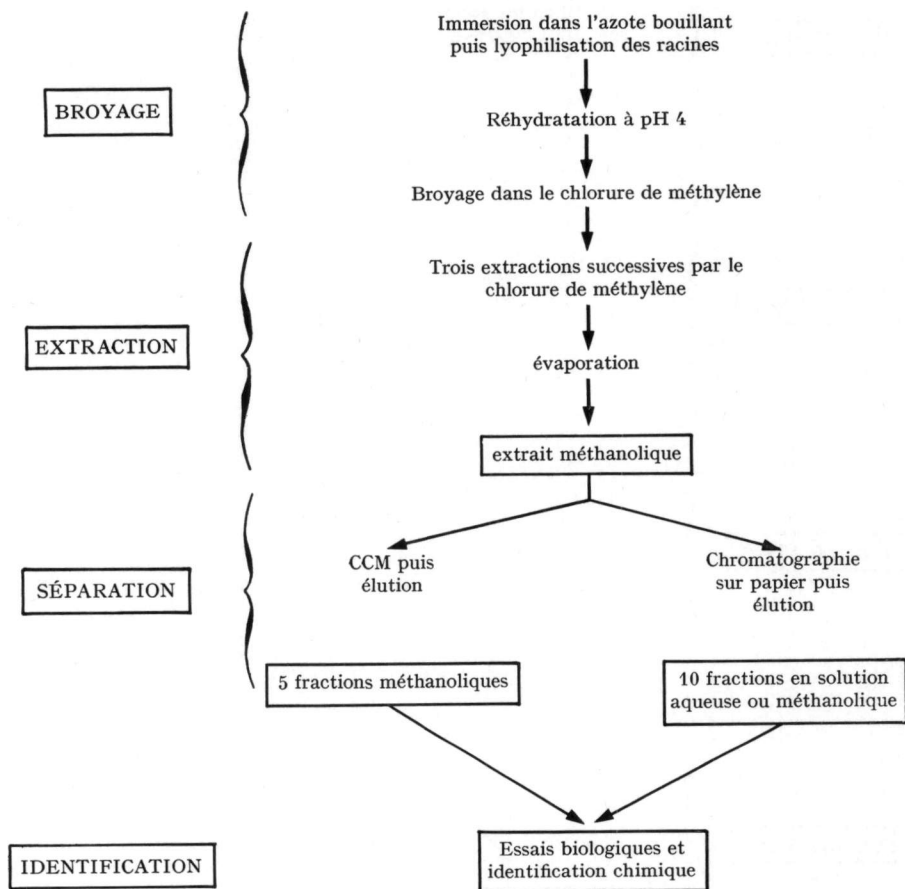


FIG. 2. — Organigramme des opérations effectuées sur les racines traitées par lyophilisation

Recherche des substances présentant une activité biologique

Différentes analyses préliminaires ont montré que les gibbérellines recherchées dans les extraits étaient systématiquement accompagnées de substances présentant des caractéristiques d'inhibiteurs de la croissance. Il a donc été nécessaire de procéder au dépistage des deux catégories de substances.

1. Recherche des gibbérellines à l'aide d'essais biologiques.

Parmi les nombreux essais biologiques permettant de déceler dans les extraits des substances présentant une activité analogue à celle des gibbérellines (revue par DURON et BRIAN, 1973), trois ont été retenus et systématiquement utilisés en raison de leur relative facilité d'exécution, de leur grande sensibilité et de leur relative fidélité. Deux sont basés sur une réaction de crois-

sance : le test Laitue et le test Riz ; le troisième repose sur le fait que les gibbérellines sont capables d'induire la synthèse d' α -amylase dans les graines de céréales : il s'agit du test « albumen d'Orge », ou, plus simplement, du test Orge.

a) *Le test Laitue.*

Il a été pratiqué suivant la méthode décrite par FRANKLAND et WAREING (1960). Des graines de Laitue de la variété « Grand Rapids » ont été mises à germer en boîte de Petri sur du papier filtre humide et à une température de 22°C. Quarante-huit heures plus tard, des graines au même stade de germination ont été choisies pour l'exécution de l'essai. Dix graines ont été ainsi placées dans un godet en verre contenant 1 ml de gélose à 1 p. 100 et 1 ml de la solution aqueuse dans laquelle étaient supposées présentes des gibbérellines. Cette dernière solution représentait une partie aliquote de l'une des fractions obtenues par chromatographie. Les godets ont ensuite été recouverts d'un capuchon de verre et placés dans une enceinte à 23°C éclairée à la « lumière du jour » pendant 16 heures. Au bout de cinq jours, les résultats de l'essai ont été recueillis en mesurant la longueur de l'hypocotyle de chaque plantule.

b) *Le test Riz.*

Il a été pratiqué suivant la méthode décrite par OGAWA (1963). Des graines de la variété « Tan Ginbozu » ont été stérilisées par immersion pendant quinze minutes dans une solution d'hypochlorite de calcium à 10 p. 100. Les graines ont été ensuite rincées dix fois à l'eau stérile puis semées en boîte de Petri sur deux rondelles de papier filtre humide et mises à germer dans une enceinte à 32°C pendant 60 heures.

Pour réaliser l'essai biologique, il a alors été procédé à une sélection de graines présentant le même stade de germination. Ces graines ont été placées par lot de sept dans des tubes à culture de 20 cm contenant 4 ml de gélose à 1 p. 100 et 1 ml de solution aqueuse susceptible de contenir des gibbérellines. Après avoir été couverts d'un bouchon de verre, les tubes ont été placés dans une enceinte à 30°C en lumière blanche continue. Au bout d'une semaine, les résultats du test sont recueillis en mesurant la longueur de la plante.

c) *Le test Orge.*

La technique qui a été utilisée est voisine de celle décrite par NICHOLLS et PALEG (1963). Le demi-grain d'Orge dépourvu de son embryon synthétise de l' α -amylase si le milieu d'incubation dans lequel il a été placé contient des gibbérellines. Le dosage des sucres réducteurs qui résultent de l'hydrolyse enzymatique de l'amidon permet donc de mettre ces hormones en évidence.

L'orge qui a été utilisée était un hybride à grains nus fourni par la Station d'Amélioration des Plantes de Clermont-Ferrand. Les graines ont été stérilisées pendant 20 minutes dans une solution d'hypochlorite de calcium à 4 p. 100 puis rincées dix fois à l'eau stérile.

On a alors déposé 0,5 ml d'un tampon acétate à pH 4,8 et 0,5 ml d'une solution de chlorure de calcium à 40 m-mole/l dans des erlenmeyers de 10 ml qui ont été ensuite stérilisés à l'autoclave.

Les opérations suivantes ont été effectuées en chambre stérile. Le milieu d'incubation a été complété par 0,4 ml d'une solution contenant 20 μ g de chloramphénicol et par 0,5 ml de solution aqueuse à tester. Puis, chaque fiole a reçu deux demi-grains d'Orge et a été placée pendant 48 heures à une température de 30°C avec agitation continue. Le milieu d'incubation a alors été recueilli et filtré.

Le dosage des sucres réducteurs formés a été effectué sur 0,5 ml de la solution précédente dilués jusqu'à un volume total de 2 ml. La méthode choisie est celle décrite par BERNFELD (1965) basée sur la réaction colorée que donne, à chaud, le sucre réducteur avec un réactif contenant de l'acide 3-5-dinitrosalicylique et du sel de Seignette. La coloration rouge brique obtenue a une intensité variable en fonction de la quantité de sucre réducteur présente dans le milieu.

Dans un tube à essais ont été mélangés 3 ml de réactif et 2 ml de solution à doser. Les tubes ont été placés dans un bain-marie à ébullition pendant cinq minutes, puis refroidis brutalement à l'eau courante à la fin de la réaction. Le dosage colorimétrique a été effectué au photocolormètre Jean et Constand à 540 nm.

Le dosage direct de l'activité enzymatique suivant la méthode de JONES et VARNER (1967) a donné des résultats tout à fait comparables.

2. Détection des « inhibiteurs ».

Un seul essai biologique, mis au point par NITSCH et NITSCH (1956), a été utilisé ; ces substances n'étant pas l'objet principal de cette étude. Des semences de blé de la variété « Vilmorin 23 » ont été mises à germer pendant 72 heures à l'obscurité dans de la vermiculite humide et à 24°C.

Des segments de coléoptile de 4 mm de long ont alors été prélevés à 2 mm de l'extrémité à l'aide d'une guillotine. Des lots de dix segments analogues ont ensuite été placés dans des tubes à essais contenant une solution glucosée tamponnée (pH 5,0) à laquelle avait été ajoutée la solution à tester.

Les tubes ont été disposés horizontalement sur un clinostat tournant à deux tours/mn dans une pièce obscure à 24°C et 95 p. 100 d'humidité relative, pendant 24 heures. Puis les segments de coléoptile ont été mesurés, l'effet des « inhibiteurs » se traduisant par une diminution de l'allongement enregistré.

De façon à permettre des évaluations quantitatives relatives à partir des différents échantillons, cet essai biologique a toujours été réalisé sur un volume de solution identique pour chacune des fractions provenant d'un chromatogramme.

3. Recherche des gibbérellines par fluorescence en chromatographie sur couche mince (CCM).

La révélation des chromatogrammes obtenus sur couche mince peut être obtenue en pulvérisant une solution concentrée d'acide sulfurique, puis en chauffant à 120°C pendant 20 minutes. Les produits de dégradation des gibbérellines émettent alors une fluorescence de couleur caractéristique lorsque le chromatogramme est exposé en lumière ultraviolette (PALEG, 1965). En disposant sur la plaque, avant migration, quelques gouttes d'une solution pure des gibbérellines A₁ à A₉, il a ainsi été possible de comparer la position et la couleur des tâches révélées à celles des substances témoin.

4. Recherche des gibbérellines par chromatographie en phase gazeuse (CPG).

Sous forme de dérivés méthylés ou de triméthyl-silyl éther de l'ester-méthylque, les gibbérellines peuvent être séparées par la chromatographie en phase gazeuse. En fonction des conditions expérimentales : température de la colonne, nature du remplissage, pression du gaz vecteur, les différentes molécules de gibbérellines présentent des temps de rétention caractéristiques de leur nature. En étalonnant l'appareil utilisé avec des solutions pures des gibbérellines connues, il devient possible d'identifier les pics qui apparaissent sur le chromatogramme. Un dosage quantitatif rigoureux est également réalisable en fonction de l'importance des pics.

Deux types de support, 2 p. 100 QFI et 2 p. 100 SE 33, ont été utilisés avec des colonnes de deux mètres sur un chromatographe Girdel, série 75, à deux colonnes, qui a été étalonné avec des solutions pures des gibbérellines suivantes : A₁, A₃, A₄, A₅, A₇, A₈, A₉ et A₁₃.

III. — RÉSULTATS ET DISCUSSION

Comparaison des différentes méthodes d'extraction

Il n'est pas possible d'évaluer quantitativement l'efficacité relative des différentes méthodes employées pour extraire les gibbérellines. En effet, les résultats obtenus montrent que ces substances sont systématiquement accompagnées dans les extraits par des molécules dont le comportement au cours des essais biologiques est celui d'inhibiteurs de la croissance. Donc, lorsqu'à la suite d'une chromatographie, on n'observe aucune activité dans une zone de R_f donné, on ne peut pas savoir si l'éluat correspondant ne contient pas de gibbérellines, ou si leur activité est masquée par des inhibiteurs. L'utilisation de dilutions successives de l'extrait initial pour effectuer les essais biologiques permet de déterminer quelle est celle des deux hypothèses formulées qui est la plus probable, mais ne constitue pas une véritable méthode de dosage.

Seule, la chromatographie en phase gazeuse pourrait fournir une évaluation quantitative. Elle n'est malheureusement pas applicable, d'une part parce que la concentration en gibbérellines des extraits est trop faible, d'autre part en raison du trop grand nombre de substances présentes qui rend difficile la localisation des gibbé-

rellines sur le chromatogramme. On a ainsi été amené à apprécier simplement la plus ou moins grande aptitude des méthodes utilisées à révéler une activité gibbéréllique perceptible.

L'extraction après broyage des racines fraîches dans le méthanol ou après diffusion sur de la gélose donne des extraits fortement colorés dans lesquels il n'est pas possible de rechercher la présence de gibbéréllines sans une purification préalable. Une chromatographie sur couche mince de gel de silice permet d'éliminer une bonne partie de ces colorants, qui restent sur la ligne de départ. Cependant, une fraction d'entre eux est entraînée par la migration du solvant et gêne l'observation de la fluorescence caractéristique des différentes molécules de gibbéréllines. En outre, certains de ces composés colorés, notamment les phénols, se comportent comme des extincteurs de la fluorescence. Enfin, les extraits fortement colorés exercent un effet inhibiteur puissant sur les essais biologiques utilisés.

Il a donc été nécessaire de poursuivre la purification des extraits par une seconde chromatographie sur colonne d'acide silicique (fig. 1). La totalité des matières colorantes est retenue par la colonne, ainsi qu'une bonne partie des inhibiteurs non colorés. La nécessité de cette seconde chromatographie est illustrée par la figure 3 qui donne les résultats d'un essai biologique effectué avant et après la chromatographie sur colonne avec le Riz (qui est particulièrement sensible aux inhibiteurs de croissance). On peut constater qu'il est impossible de mettre en évi-

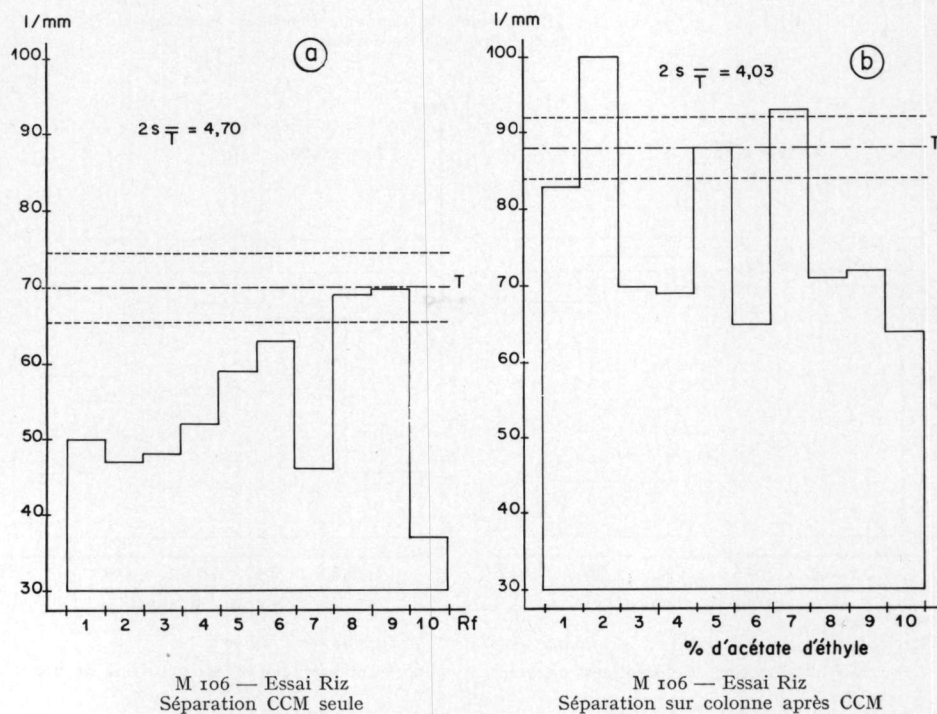
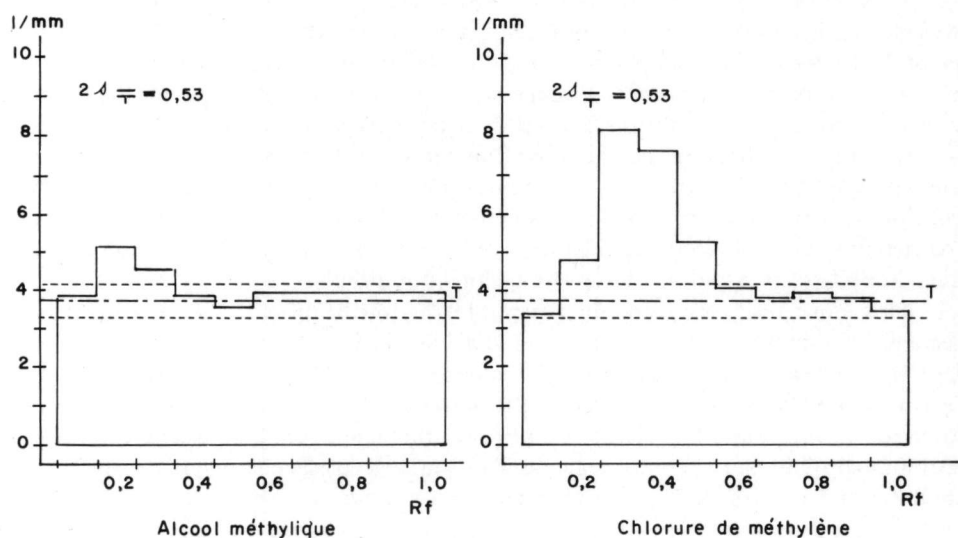


FIG. 3. — Comparaison de deux méthodes de purification d'extrait racinaire

Après avoir été séparées par CCM, les fractions ont été regroupées.

L'ensemble a été chromatographié sur colonne (CCM = Chromatographie sur couche mince)



A : Dans l'extraction des gibbérellines de racines lyophilisées mesurée par le test hypocotyle de Laitue

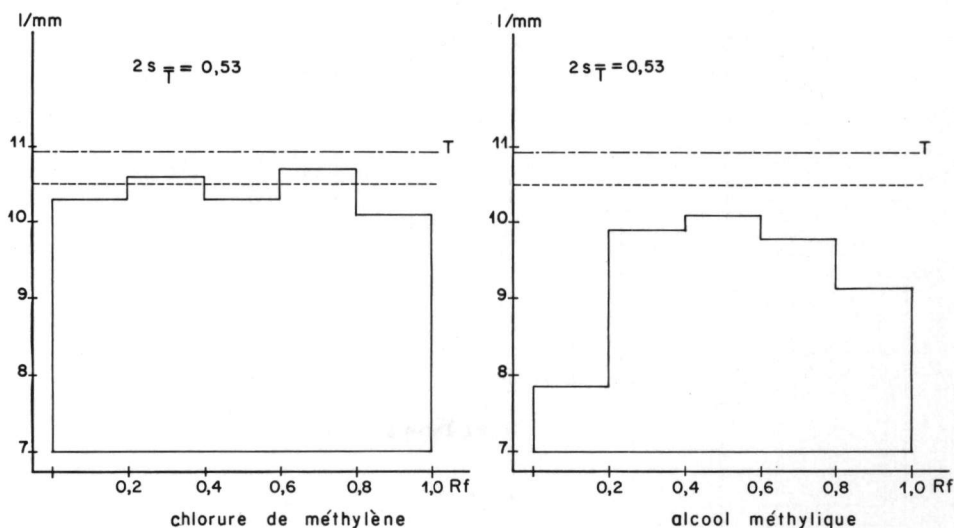


FIG. 4. — Comparaison de l'efficacité de deux solvants

B : Dans l'extraction des inhibiteurs de racines lyophilisées mesurée par le test coléoptile de Blé

dence la moindre activité gibbérellique avant d'avoir purifié les extraits par la chromatographie sur colonne.

La lyophilisation du matériel aussitôt après son prélèvement réduit beaucoup l'importance de tous les processus d'oxydation. Quelle que soit la méthode d'extraction utilisée ensuite, les extraits obtenus sont clairs et la purification sur colonne est inutile (fig. 2). Cependant, le choix du solvant d'extraction influe sur la quantité d'inhibiteurs non colorés qui accompagnent les gibbérellines dans les extraits soumis aux essais biologiques.

Sur des racines lyophilisées, deux solvants d'extraction, le méthanol (KOSHIMIZU *et al.*, 1968) et le chlorure de méthylène (LUCKWILL *et al.*, 1969) ont été comparés. Le poids de racines lyophilisées soumises à l'extraction et le processus suivi ont été rigoureusement identiques avec les deux solvants. La séparation a été effectuée par chromatographie ascendante sur papier Whatman n° 1 avec de l'eau distillée comme phase mobile. L'efficacité des deux solvants a été observée à l'aide de deux essais biologiques : l'essai Laitue pour apprécier l'activité gibbérellique et l'essai Blé pour apprécier l'activité inhibitrice.

Une activité biologique de type gibbérellique peut être décelée après extraction par les deux solvants, à des Rf équivalents. Cette activité est nettement plus intense après extraction par le chlorure de méthylène (fig. 4 A). La comparaison des deux solvants par l'essai Blé, montre également une différence importante : dans les deux cas, des inhibiteurs sont extraits, mais l'inhibition est beaucoup plus accentuée dans le cas du méthanol (fig. 4 B). Il semble que ce dernier solvant soit à rejeter au profit du chlorure de méthylène lorsque l'on cherche à déceler l'activité des gibbérellines présentes dans les extraits.

Comparaison des méthodes de séparation

Trois méthodes de séparation ont été principalement utilisées : la chromatographie sur couche mince, la chromatographie sur colonne et la chromatographie sur papier.

La chromatographie sur colonne d'acide silicique permet une bonne séparation d'un certain nombre de gibbérellines. Cependant, le comportement des nombreuses molécules de ce type au cours de l'élution par les différents solvants utilisables reste encore inconnu. De plus, l'identification des substances présentes dans chaque fraction ne peut se faire qu'à l'aide de la chromatographie sur couche mince ou de la chromatographie en phase gazeuse. La méthode n'a donc été utilisée que pour purifier et concentrer les gibbérellines et, plus particulièrement, pour les séparer des inhibiteurs naturels ou des produits d'oxydation accumulés au cours des manipulations antérieures.

La chromatographie sur papier ne permet pas d'obtenir une bonne localisation de l'activité caractéristique d'une gibbérelline. Un essai réalisé avec une solution pure de GA₃ a montré que l'activité hormonale était présente sur près des deux tiers du chromatogramme. Bien entendu, on a constaté l'existence d'un pic d'activité maximale correspondant à l'un des Rf, mais de nombreuses autres zones provoquent également une élévation des plantes test significativement supérieure à celle des témoins. Donc, la méthode peut être utilisée pour séparer les gibbérellines d'un certain nombre de produits qui demeurent sur la ligne de départ du chromatogramme, mais elle

est insuffisante pour séparer des molécules de gibbérellines qualitativement et quantitativement différentes dans un extrait complexe.

La chromatographie sur couche mince permet une bonne séparation des différentes activités. L'étalement des substances actives est très rarement supérieur à 0,2 unités Rf, et l'imprécision la plus importante provient de ce que certaines sont localisées juste à la ligne de séparation de deux bandes d'élution, ce qui entraîne la répartition de l'activité correspondante entre deux fractions consécutives.

Comparaison des méthodes de détection et d'identification

Deux types de méthodes de détection et d'identification ont été utilisées :

- *des méthodes physico-chimiques* : la chromatographie sur couche mince révélée par une solution sulfurique et la chromatographie en phase gazeuse ;
- *des méthodes biologiques* : les différents essais biologiques indiqués précédemment.

Les méthodes physico-chimiques ne permettent l'identification des molécules inconnues que par comparaison avec des solutions pures de gibbérellines témoins traitées dans les mêmes conditions. Seules, huit gibbérellines pures étaient disponibles sur la trentaine actuellement connues (DURON et BRIAN, 1973). Il était donc impossible d'opérer une identification correcte. De plus, la complexité des extraits obtenus était telle que le repérage d'une molécule devenait très difficile.

Les chromatographies sur couche mince ont été révélées par pulvérisation d'une solution alcoolique à 5 p. 100 d'acide sulfurique, suivie d'un chauffage à 120°C pendant dix à vingt minutes (McMILLAN et SUTER, 1963). Dans ces conditions, les produits de dégradation des gibbérellines émettent une fluorescence de couleur caractéristique de la molécule lorsque le chromatogramme est éclairé en lumière ultraviolette. Or, un certain nombre de substances qu'il a été impossible d'éliminer des extraits gênent l'observation de cette fluorescence, ou même se comportent comme de véritables « extincteurs de fluorescence » (c'est le cas des composés portant une ou plusieurs fonctions phénol). De plus, seules sont connues les fluorescences caractéristiques d'une douzaine de gibbérellines.

Les chromatographies en phase gazeuse n'ont pas fourni de meilleurs résultats pour des raisons analogues. D'une part, la complexité encore trop grande des extraits gêne l'observation des pics caractéristiques des gibbérellines ; d'autre part, les caractéristiques chromatographiques de la plupart de ces molécules demeurent inconnues dans nos conditions expérimentales.

Les différents essais biologiques utilisés permettent de savoir si, dans une fraction recueillie à l'issue d'une chromatographie, on peut constater une « activité gibbérélique ». Cela permet d'avoir une idée sur le type de substances présentes dans les extraits, mais ne constitue en aucune façon une identification. De plus, la plante-test fournit une réponse moyenne résultant de l'action simultanée d'activateurs et d'inhibiteurs. Il est donc difficile de savoir si l'absence d'activité dans un extrait est provoquée par l'absence de gibbérellines ou par la présence de substances inhibitrices non détectées. En effet, un seul essai biologique permet de vérifier la présence des inhibiteurs dans les différentes fractions d'un extrait. Ces composés étant encore mal connus, rien ne permet d'affirmer que la plante-test, le Blé, les détecte tous.

En outre, la présence d'inhibiteurs dans un extrait ne permet pas de savoir si l'activité des gibbérellines présentes est masquée, ou s'il n'y a pas de gibbérellines.

D'autre part, un travail de CROZIER *et al.* (1970) montre que les essais biologiques réagissent avec des intensités variables aux différentes gibbérellines. Ainsi, GA₂₀ n'est pas détectable par les neuf essais cités par les auteurs. Certains de ces essais, dont l'exécution est délicate, ne peuvent pas être utilisés de façon routinière ou bien sont tellement sensibles aux « inhibiteurs » qu'aucune réaction n'est perceptible en présence de quantités infimes de ces substances.

Les moyens techniques disponibles permettent donc simplement d'établir une corrélation entre la présence d'une substance possédant une activité analogue à celle d'une gibbérelline sur les plantes-test utilisées et la localisation d'une tache fluorescente lorsque le chromatogramme a été révélé. Une véritable identification est impossible. Seule, l'utilisation d'un spectrographe de masse la permettrait sans ambiguïté, mais les quantités de substances actives des extraits obtenus sont trop faibles pour qu'une telle analyse soit possible, d'autant plus qu'une meilleure purification, absolument indispensable, semble irréalisable.

Enfin, il faut souligner que les sensibilités des trois méthodes de détection utilisées sont très différentes. En opérant avec des solutions pures de gibbérellines-étalon, il a pu être établi que les essais biologiques étaient nettement les plus sensibles, détectant en moyenne une activité lorsque la concentration en gibbérellines atteignait 0,01 µg par ml. La chromatographie sur couche mince révélée par l'acide sulfurique était dix fois moins sensible, la chromatographie en phase gazeuse cent fois moins. Pour obtenir une réponse interprétable avec cette dernière méthode, il aurait donc fallu multiplier par cent la quantité de matériel initial (ce qui aurait été techniquement irréalisable) ou avoir des extraits cent fois plus concentrés (ce qui aurait posé des problèmes considérables pour les opérations de purification).

Contrôle des procédures d'extraction sur le Pois

JONES et LACEY (1968) ont identifié les gibbérellines A₁ et A₅ dans les jeunes plantules de Pois cultivé de la variété « Alaska ». Un contrôle des procédures adoptées a donc pu être effectué en les appliquant à ce matériel.

Des plantules de 10 jours de la variété « Alaska » ont été lyophilisées puis soumises au type d'extraction décrit par la figure 2. Par rapport à ce schéma, deux purifications supplémentaires ont dû être effectuées : la première par passage sur une colonne charbon-célite 1 : 3 éluee par un gradient acétone-eau, la seconde par passage sur une colonne célite-acide silicique 1 : 2 éluee par un gradient acétate d'éthyle-hexane.

L'extrait obtenu a ensuite été soumis à une chromatographie sur couche mince suivant la méthode déjà décrite pour séparer les molécules actives. En utilisant comme solvant un mélange éther isopropylique-acide acétique 95 : 5, les R_f des gibbérellines A₁ et A₅ sont respectivement 0,15 et 0,50.

Les résultats obtenus avec l'essai hypocotyle de Laitue sont décrits par la figure 5. On retrouve bien deux zones d'activité dont les R_f correspondent à ceux des gibbérellines A₁ et A₅.

Ceci permet de penser que la procédure suivie pour traiter les extraits racinaires de Pommier est suffisamment efficace pour extraire les gibbérellines présentes.

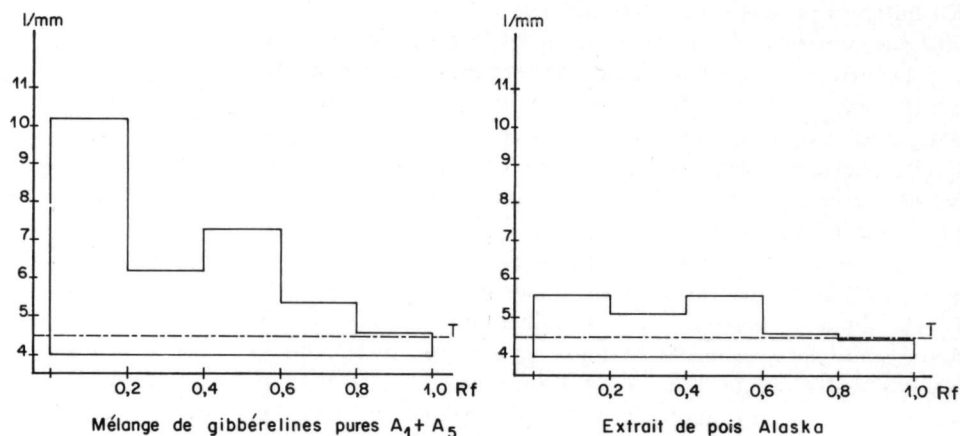


FIG. 5. — Comparaison par le test hypocotyle de Laitue, de la position de l'activité biologique d'un mélange de gibbérellines $A_1 + A_5$ et d'un extrait de plantules de Pois (var. « Alaska »)

IV. — CONCLUSION

Compte tenu des techniques utilisables, il serait peu réaliste d'espérer mettre un nom sur les différentes gibbérellines produites par divers génotypes de porte-greffes. On peut simplement chercher à déterminer si des clones très différents par leurs propriétés physiologiques, présentent des activités de type gibbérellique ou inhibitrice dans des zones de Rf correspondants ou non. Il est vraisemblable que cette évaluation ne portera que sur une partie des substances actives produites par les génotypes étudiés puisqu'un certain nombre de molécules échappent encore aux méthodes de détection employées.

La meilleure méthode semble bien être la lyophilisation du matériel végétal aussitôt après son prélèvement, suivie d'une extraction par le chlorure de méthylène. Le repérage des molécules actives après leur séparation par chromatographie sur couche mince de silice peut être assuré en révélant les chromatogrammes par pulvérisation d'acide sulfurique, à condition de vérifier la présence d'une activité gibbérellique ou inhibitrice grâce à des essais biologiques aussi polyvalents que possible.

Reçu pour publication en juin 1974.

SUMMARY

DETERMINATION OF SUBSTANCES SIMILAR TO GIBBERELLINS AND INHIBITORS IN THE APPLE TREE (*MALUS PUMILA*).

I. — METHODOLOGY

Different methods of extraction and separation of growth substances by the roots of clonal rootstock have been compared. The freeze drying of root tips, followed by an extraction with methylene chloride, has given excellent results in the research of growth regulation substances.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BERNFELD P., 1955. Amylases. In : COLOWICK S. P., KAPLAN M. O. (Ed.), *Methods in Enzymology*, **1**, 149-158, Academic Press, New York.
- CROZIER A., KUO C. C., DURLEY R. C., PHARIS R. P., 1970. The biological activities of 26 gibberellins in nine plant bioassays. *Canad. J. Bot.*, **48**, (5), 867-877.
- DENNIS F. G., NITSCH J. P., 1966. Identification of gibberellins A₄ and A₇ in immature Apple seeds. *Nature*, **211**, 781-782.
- DURON M., BRIAN C., 1973. Les gibbérellines : biosynthèse, action et méthodes de détection chez les végétaux supérieurs. *Ann. Amélior. Plantes*, **23** (2), 163-179.
- FRANKLAND B., WAREING P. F., 1960. Effect of gibberellic acid on hypocotyl growth of Lettuce seedlings. *Nature*, **185**, 255-256.
- JONES O. P., LACEY H. J., 1968. Gibberellin-like substances in the transpiration stream of apple and pear trees. *J. exp. Bot.*, **19** (60), 526-531.
- JONES R. L., VARNER J. E., 1967. The bioassay of gibberellins. *Planta*, **72**, 155-161.
- KOSHIMUZU K., FUKUI H., KUSAKI T., OGAWA Y., MITSUI T., 1968. Isolation and structure of gibberellin A₁₈ from immature seeds of *Lupinus luteus*. *Agric. biol. Chem.*, **32**, (9), 1135-1140.
- LANG A., 1970. Gibberellins : structure and metabolism. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **21**, 537-570.
- LUCKWILL L. C., WEAVER P., McMILLAN J., 1969. Gibberellins and other growth hormones in apple seeds. *J. hort. Sci.*, **44**, 414-424.
- McMILLAN J., SUTER P. J., 1963. Thin layer chromatography of the gibberellins. *Nature*, **197**, 790.
- MURAKAMI Y., 1968. Gibberellin-like substances in roots of *Oryza sativa*, *Pharbitis nil* and *Ipomea batatas* and the site of their synthesis in plants. *Bot. Mag. Tokyo*, **81**, 334-343.
- NICHOLLS P. B. N., PALEG L. G., 1963. A barley endosperm bioassay for gibberellins. *Nature*, **199**, 823-824.
- NITSCH J. P., NITSCH C., 1956. Studies on the growth of coleoptile and first internode sections. A new sensitive straight-growth test for auxins. *Plant Physiol.*, **31**, 94-111.
- OGAWA Y., 1963. Studies on the conditions of gibberellin assay using rice seedling. *Plant cell Physiol.*, **4**, 227-237.
- PALEG L. G., 1965. Physiological effects of gibberellins. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **16**, 291-322.
- POWELL L. E., TAUTVYDAS K. J., 1967. Chromatography of gibberellins on silicagel partition columns. *Nature*, **213**, 292-293.
- PROANO J. A., GREEN G. L., 1968. Endogenous gibberellins of a single dwarf mutant of bean. *Plant Physiol.*, **44**, 1227-1229.
- SITTON D., RICHMOND A., VAADIA Y., 1967. On the synthesis of gibberellins in roots. *Nature*, **217**, 580-583.
- SPECTOR C., PHINNEY B. O., 1968. Gibberellin biosynthesis : genetic studies in *Gibberella fujikuroi*. *Physiol. Plant.*, **21**, 1-27.

MISE EN ÉVIDENCE DE SUBSTANCES ANALOGUES AUX GIBBÉRELLINES ET D'INHIBITEURS CHEZ LE POMMIER (*MALUS PUMILA*) ⁽¹⁾

II. — APPLICATION A L'ÉTUDE
DE QUELQUES GÉNOTYPES PORTE-GREFFES ET VARIÉTAUX

M. DURON et C. BRIAN

avec la collaboration de Christiane GAIRE*

*Station de Recherches d'Arboriculture fruitière, I. N. R. A.,
Beaucouzé, 49000 Angers*

** Laboratoire de Recherches fondamentales de Physiologie végétale,
49000 Angers*

RÉSUMÉ

L'étude des substances de croissance produites par les racines de porte-greffes clonaux du Pommier a montré la présence de composés se comportant les uns comme des gibbérellines, les autres comme des inhibiteurs. Les génotypes étudiés n'ont pu être caractérisés par un type de molécule particulier. Par contre, il est apparu que des génotypes de vigueur comparable présentent des taux d'inhibiteurs analogues.

I. — INTRODUCTION

Les variétés de Pommier sont très généralement greffées sur les porte-greffes clonaux sélectionnés par les stations anglaises d'East-Malling et de Long Ashton. Ces porte-greffes confèrent aux variétés des caractéristiques de croissance qui dépendent principalement de leur génotype. Cependant, leur influence est le résultat d'une interaction entre les deux composants de l'association, et il est très vraisemblable qu'elle se manifeste en partie par l'intermédiaire des relations hormonales entre les génotypes.

⁽¹⁾ Ce travail a été réalisé dans le cadre d'un contrat de coopération passé entre l'I. N. R. A. et le Laboratoire de Recherches fondamentales de Physiologie végétale (C. N. R. S.) dirigé par M. BEAUCHESNE.

Les racines des végétaux présentent de fortes concentrations en différentes hormones et, plus particulièrement, en gibbérellines (PHILLIPS et JONES, 1964 ; KENDE et SITTON, 1967 ; MURAKAMI, 1968). Bien que la question soit encore controversée, certains auteurs ont apporté des preuves assez convaincantes d'une synthèse active de ces gibbérellines par les méristèmes radiculaires (JONES et PHILLIPS (1966) par exemple). On peut donc penser expliquer une partie au moins des effets des différents porte-greffes de Pommier sur la variété par des différences dans les gibbérellines synthétisées par chaque génotype. La recherche de la gamme de gibbérellines produites par les différents porte-greffes clonaux du Pommier a donc été entreprise.

Cependant, une étude méthodologique préalable a montré qu'il ne pouvait être question de s'intéresser aux seules gibbérellines, sans prendre également en considération les substances « inhibitrices » (DURON et BRIAN, 1975). Une évaluation quantitative des inhibiteurs produits par les génotypes étudiés a donc été tentée.

D'autre part, certains mutants naturels ou induits de diverses variétés de Pommier se caractérisent par une vigueur plus réduite et des entre-nœuds plus courts que la variété d'origine : ce sont les mutants « spur ». Chez d'autres espèces, un certain nombre de mutants nains répondent à des applications exogènes de gibbérellines par une augmentation de la croissance. Le déterminisme physiologique du caractère « spur » chez le Pommier étant inconnu, il était tentant de rechercher l'existence éventuelle de différences qualitatives entre une variété et un de ses mutants quant aux substances de croissance produites.

II. — MATÉRIEL ET MÉTHODES

La recherche des substances actives sur la croissance a été effectuée en utilisant les méthodes décrites et discutées précédemment (DURON et BRIAN, 1975).

Une première expérimentation a consisté à comparer six porte-greffes correspondant à deux groupes de vigueur : « M 26 », « M 106 » et « M 111 » qui confèrent aux variétés une vigueur modérée et « M 25 », « M 104 » et « M 109 » qui confèrent une vigueur élevée. Les racines obtenues sur des marcottes placées dans du sable ont été recueillies en cumulant plusieurs échantillons puis immergées dans du méthanol pur et broyées. La purification des extraits obtenus, la séparation des substances actives par chromatographie et le déroulement des essais biologiques ont été décrits (DURON et BRIAN, 1975). Les analyses ont porté sur des poids frais de racines équivalents pour tous les génotypes étudiés.

La même comparaison a été reprise en utilisant seulement l'extrémité des jeunes racines placées sur de l'agar de façon à recueillir les substances actives par diffusion, la suite des opérations étant analogue à ce qui vient d'être exposé. Les analyses ont porté sur des nombres de pointes de racines équivalents pour tous les génotypes étudiés (soit environ deux cents extrémités racinaires par porte-greffe).

Les possibilités de variation dans les substances actives produites en fonction de l'état physiologique du matériel ont été étudiées sur deux porte-greffes, le « M 26 » et le « M 109 », conférant des vigueur très différentes. Des lots de 400 marcottes ont

été placés en chambre froide à + 2°C, pendant 60, 75, 90 et 105 jours, puis placés en serre dans du sable pour que s'effectue la sortie des racines. Tous les bourgeons avaient préalablement été supprimés sur la partie aérienne. Les racines obtenues ont été lyophilisées et les analyses ont été effectuées pour chaque porte-greffe sur 20 g de matériel.

La comparaison des deux variétés « Golden » et « Golden spur » a été effectuée sur l'extrémité des jeunes pousses non lignifiées (quatre entre-nœuds), peu de temps après le débourrement au printemps. La méthode d'extraction est analogue à celle utilisée pour les racines broyées, les substances actives sur la croissance restent en solution dans l'acétate d'éthyle alors que les chlorophylles se trouvent dans la phase aqueuse. Les inhibiteurs ont été extraits par l'éther suivant la méthode décrite par ELIASSON (1969).

Dans tous les cas, la recherche des substances actives a été poursuivie sur au moins deux échantillons distincts de chaque génotype. Les essais biologiques ont été répétés chacun au moins deux fois et l'ensemble de l'expérimentation exécuté deux années consécutives. Tous les résultats des essais biologiques ont été soumis à une analyse statistique (très généralement une analyse de variance à un facteur contrôlé), sauf dans certains cas (l'essai albumen d'Orge) pour lequel il n'a pas toujours été possible d'avoir un nombre de répétitions suffisant. Les résultats ont été exprimés sous forme graphique, en indiquant la moyenne du témoin affectée de son intervalle de confiance (deux fois l'écart-type de la moyenne).

III. — RÉSULTATS

I. — *Analyse des extraits obtenus par broyage*

Trois essais biologiques ont été utilisés pour tenter de caractériser les porte-greffes utilisés : les essais hypocotyle de Laitue, Riz, et Orge. L'essai coléoptile de Blé, qui permet de détecter les inhibiteurs, n'a pas pu être pratiqué par insuffisance de matériel. Dans une certaine mesure, cette lacune est compensée par la très grande sensibilité de la plantule de Riz aux substances inhibitrices.

La réalisation de l'essai Riz, après séparation des substances actives par une chromatographie sur couche mince a permis de répartir les six porte-greffes étudiés en deux groupes qui se distinguent par le fait que, chez l'un d'eux, la présence de substances inhibitrices gêne considérablement la croissance des plantules et empêche toute détection d'une activité de type gibbérellique (fig. 1). Il est remarquable que les génotypes présentant l'inhibition la plus forte, « M 111 », « M 106 », « M 26 », soient justement ceux qui confèrent aux variétés la vigueur la plus réduite.

L'absence d'activité constatée dans les extraits des porte-greffes « M 111 », « M 106 » et « M 26 » ne doit pas être attribuée à une absence de gibbérellines. En effet, une purification par chromatographie sur colonne d'acide silicique — celite, qui élimine une partie des inhibiteurs, permet de retrouver, avec ce même essai Riz, une légère activité gibbérellique (fig. 2) ; pourtant, il est certain que cette manipulation supplémentaire entraîne la perte d'une partie des substances actives. Il n'est guère possible de porter d'autres conclusions sur les porte-greffes conférant une faible vigueur : les deux autres essais biologiques présentent également une activité de type

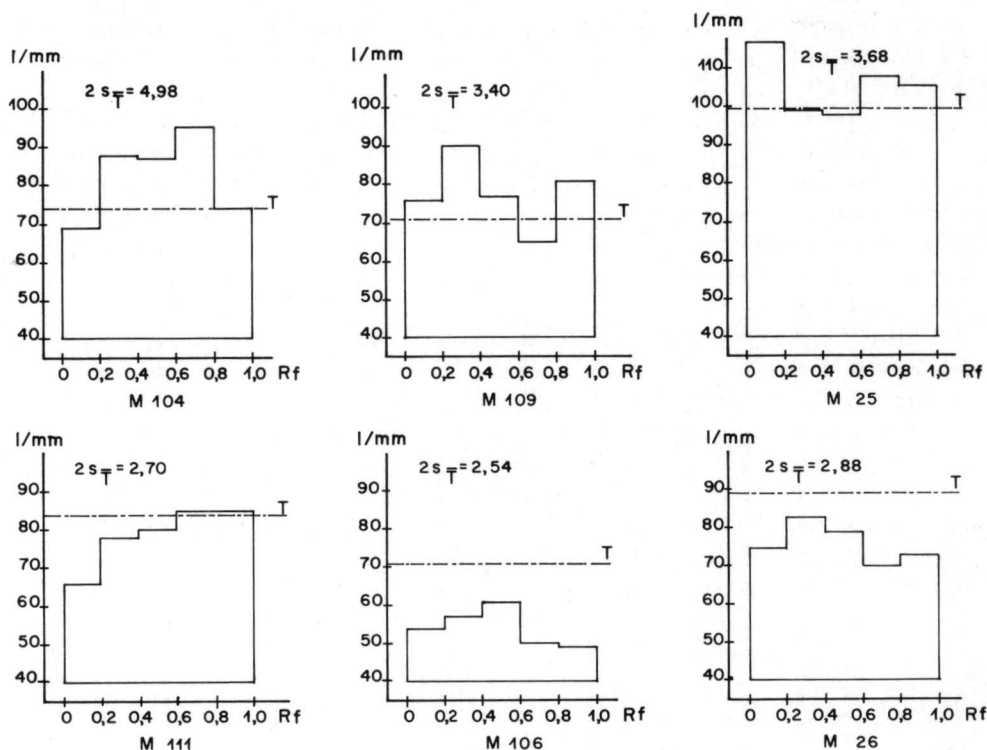


FIG. 1. — Mesure de l'activité gibbérellique par l'essai Riz dans les extraits racinaires de porte-greffes de deux groupes de vigueur (porte-greffes vigoureux : « M 104 », « M 109 », « M 25 » ; porte-greffes peu vigoureux : « M 111 », « M 106 » et « M 26 »)

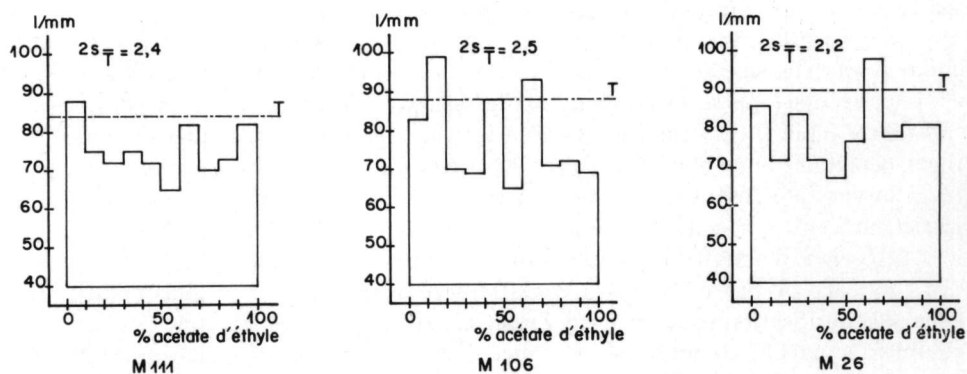
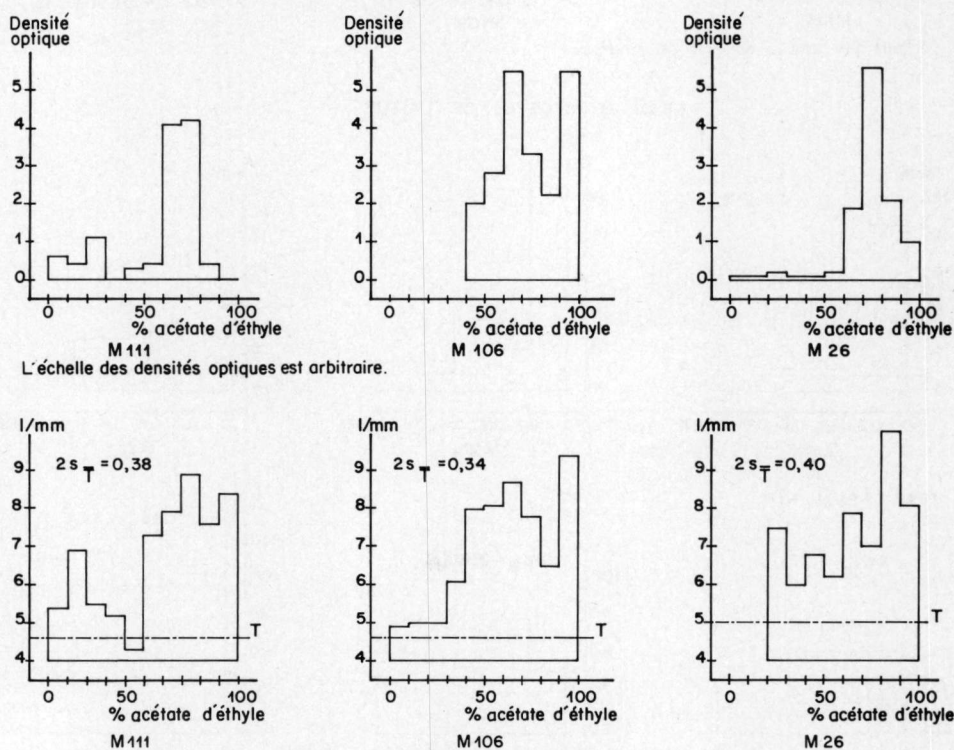


FIG. 2. — Mesure de l'activité gibbérellique par l'essai Riz dans les extraits racinaires de trois porte-greffes peu vigoureux

gibbérélique (fig. 3), mais la présence d'inhibiteurs et la nécessité d'une purification supplémentaire doivent faire considérer avec circonspection la localisation de ces activités. Toutefois, on peut constater qu'avec les essais Laitue et Orge, les porte-greffes « M 111 » et « M 106 » présentent deux zones d'activité, correspondant approximativement à 20 p. 100 et à 80 p. 100 d'acétate d'éthyle pour le premier et à 70 à 100 p. 100 pour le second. Ces observations concordent assez bien avec les résultats fournis par l'essai riz dans le cas du « M 106 » qui, des trois porte-greffes peu vigoureux, est le moins riche en inhibiteurs. Dans le cas du « M 26 », les résultats des différents tests sont moins cohérents et l'on peut simplement noter la présence d'une zone active pour des concentrations en acétate d'éthyle allant de 60 à 100 p. 100.

ESSAI ALBUMEN D'ORGE

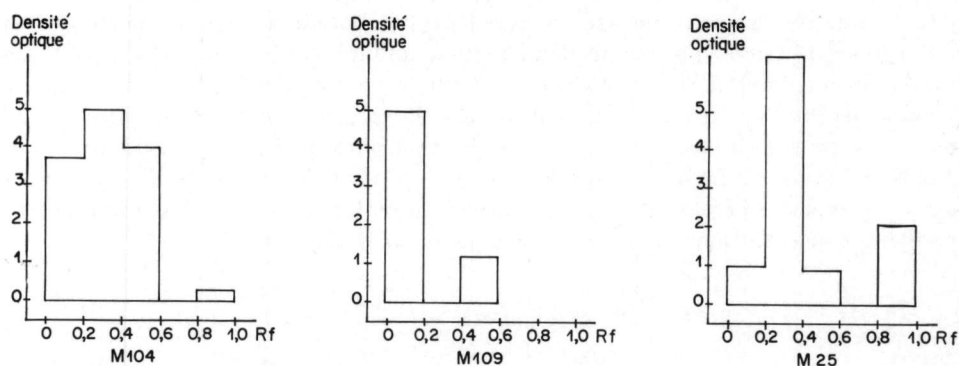


ESSAI HYPOCOTYLE DE LAITUE.

FIG. 3. — Mesure de l'activité gibbérélique dans les extraits racinaires de trois porte-greffes peu vigoureux

Dans le cas des porte-greffes vigoureux « M 104 », « M 109 » et « M 25 », les résultats fournis par les trois essais biologiques concordent mieux (fig. 4). Les extraits des trois géotypes présentent deux zones principales d'activité. Dans le cas du « M 104 », une importante activité est localisée en début de chromatogramme (de Rf 0 à Rf 0,6), une plus petite en fin (Rf 0,8 à Rf 1,0). Dans le cas du « M 109 », les deux activités sont localisées au début (Rf 0 à Rf 0,2) et au milieu (Rf 0,4-0,6)

ESSAI ALBUMEN D'ORGE



L'échelle des densités optiques est arbitraire

ESSAI HYPOCOTYLE DE LAITUE

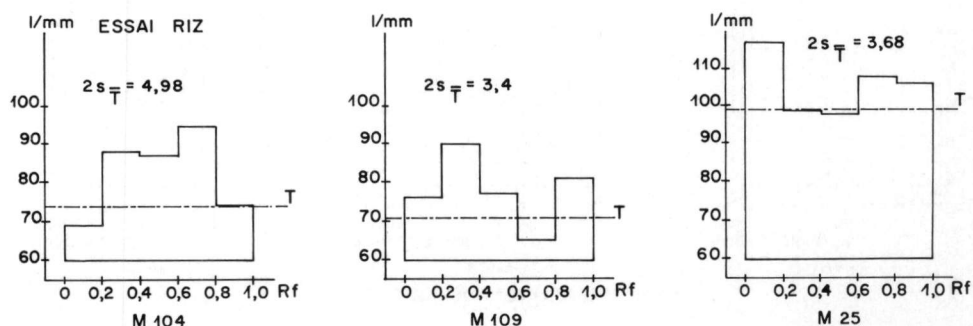
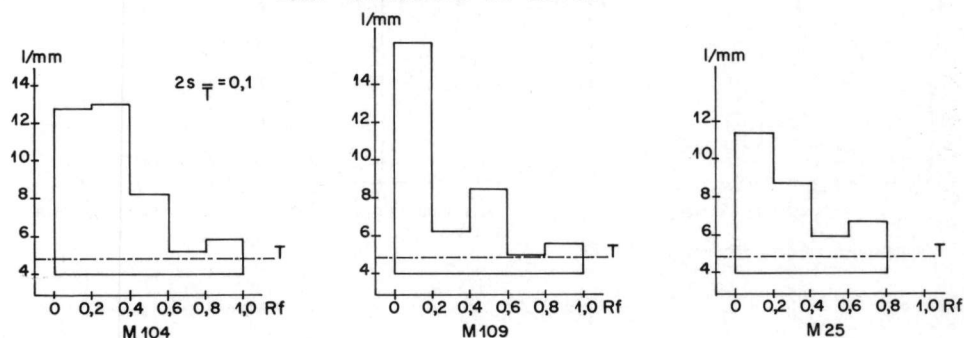


FIG. 4. — Essais biologiques effectués sur les extraits des porte-greffes vigoureux

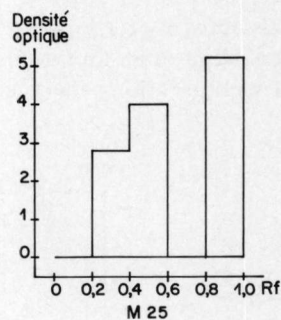
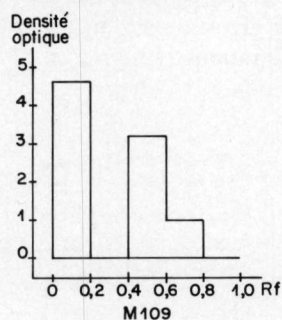
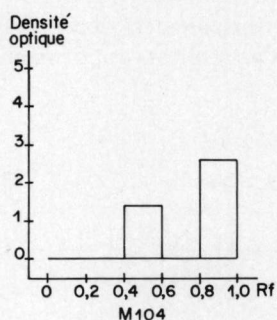
du chromatogramme. Enfin, dans le cas du « M 25 », la principale zone d'activité se situe en début (Rf 0-0,4), l'autre en fin (Rf 0,8-1,0) de chromatogramme. Ici encore, les résultats de l'essai Riz sont moins sûrs que ceux des deux autres : la grande sensibilité de la plantule de Riz à différentes substances qui inhibent sa croissance a entraîné une forte mortalité des plantes-tests, donc une altération des résultats.

La révélation d'un certain nombre de chromatographies sur couche mince par pulvérisation d'acide sulfurique, chauffage et examen en lumière ultra-violette a montré la présence d'un nombre important de taches fluorescentes dans les zones où avait été décelée une activité biologique. Il n'a malheureusement pas été constaté simultanément la coïncidence du Rf et de la couleur de la tache avec les caractéristiques des gibbérellines-témoins dont nous disposions.

2. — Analyse des extraits obtenus par diffusion sur gélose

Les mêmes porte-greffes ont été analysés par cette méthode. Seuls, deux essais biologiques, l'hypocotyle de Laitue et l'albumen d'Orge, ont donné des résultats interprétables. En effet, au cours de la diffusion, de nombreuses substances normalement présentes dans les racines subissent une dégradation par oxydation. Ces produits d'oxydation s'accumulent dans la gélose et exercent ensuite un effet inhibiteur puissant sur les plantes-tests et, tout particulièrement, sur le Riz dont la croissance est totalement arrêtée. La purification par chromatographie sur colonne d'acide silicique s'est montrée insuffisante pour éliminer ces inhibiteurs.

ESSAI ALBUMEN D'ORGE



ESSAI HYPOCOTYLE DE LAITUE

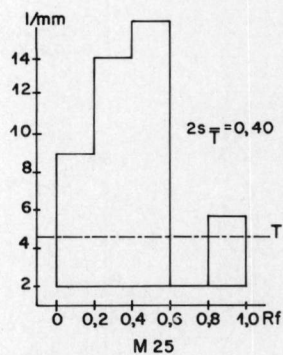
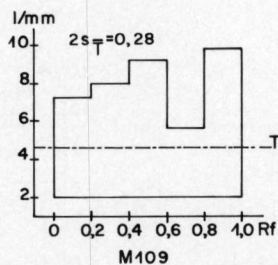
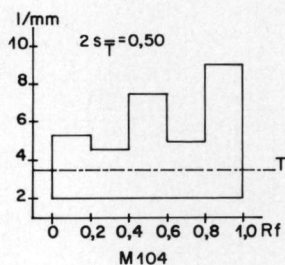


FIG. 5. — Comparaison de l'activité gibbéréllique dans les extraits racinaires de trois porte-greffes vigoureux

Les six porte-greffes étudiés se répartissent encore en deux groupes : les trois porte-greffes conférant une faible vigueur, c'est-à-dire les « M 111 », « M 106 » et le « M 26 », présentent une très forte concentration en inhibiteurs qui empêche toute

détection d'une activité gibbérellique avec l'essai Laitue et qui rend très imprécise l'interprétation de l'essai Orge. Par contre, dans le cas des porte-greffes conférant une vigueur élevée (« M 104 », « M 109 » et « M 25 »), les résultats fournis par ces deux essais biologiques sont en assez bonne concordance avec ce qui a été trouvé dans les extraits obtenus par broyage. On retrouve pour chaque génotype deux zones d'activité dont les caractéristiques chromatographiques sont très voisines de celles qui avaient été trouvées précédemment (fig. 5).

L'examen de chromatographies sur couche mince révélées par l'acide sulfurique est encore plus décevante que dans le cas des extraits obtenus par broyage : certains composés « inhibiteurs » modifient la coloration des taches ou, même, exercent un effet extincteur sur la fluorescence caractéristique des gibbérellines. Dans ces conditions, toute identification des molécules actives devient illusoire.

Sur les extraits provenant de quatre des porte-greffes étudiés, les « M 106 », « M 111 », « M 109 » et « M 104 », il a pu être réalisé un essai coléoptile de Blé qui a permis d'évaluer, par un test spécifique, la présence d'inhibiteurs chez chacun des génotypes (fig. 6). On peut constater que les deux porte-greffes qui confèrent la plus faible vigueur, les « M 111 » et « M 106 », sont beaucoup plus riches en inhibiteurs répartis dans toutes les fractions que les porte-greffes conférant une vigueur élevée, les « M 104 » et « M 109 ». Cependant ces substances ne sont pas totalement absentes chez les porte-greffes vigorisants : on les trouve principalement localisées en début et en fin de chromatogramme (Rf 0-0,2 et 0,8-1,0). Ces résultats confirment les observations effectuées avec l'essai Laitue.

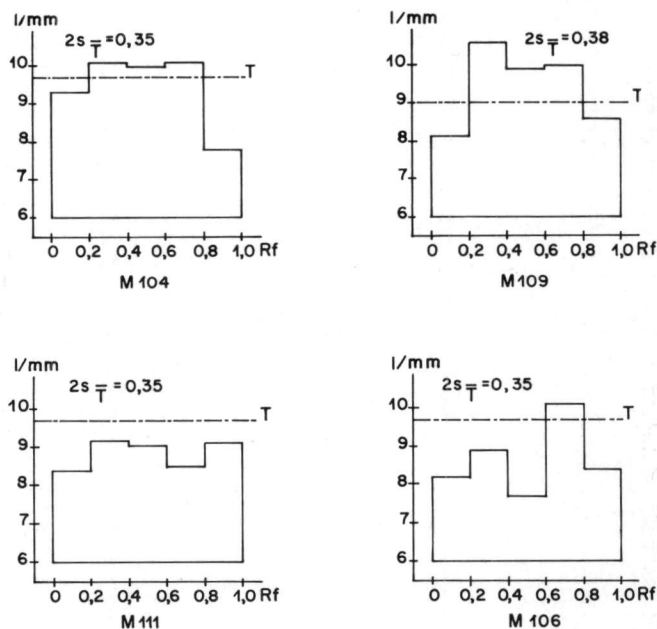


FIG. 6. — Mesures de l'activité inhibitrice par l'essai coléoptile de Blé dans les extraits racinaires de porte-greffes appartenant à deux groupes de vigueur (porte-greffes vigoureux : « M 104 » et « M 109 » ; porte-greffes peu vigoureux : « M 111 » et « M 106 »).

3. — *Analyse des extraits obtenus après lyophilisation du matériel végétal*

Cette analyse a été conduite sur deux porte-greffes très différents, le « M 26 » peu vigoureux et le « M 109 » conférant une grande vigueur, de façon à suivre une éventuelle évolution dans le temps des substances actives. Deux essais biologiques seulement ont été pratiqués, l'essai hypocotyle de Laitue pour la recherche d'une activité gibbérellique et l'essai coléoptile de Blé pour la détermination de l'activité inhibitrice. Les analyses ont été conduites sur des quantités identiques de matériel lyophilisé et les résultats obtenus permettent donc une certaine évaluation quantitative.

Les différents échantillons sur lesquels ont été effectués les essais biologiques provenaient de marcottes ayant séjourné en chambre froide (2°C) 60, 75, 90 et 105 jours. Les racines prélevées sur ces marcottes ont donné respectivement les prélèvements 1, 2, 3, et 4. L'examen des figures 7 et 8 montre qu'il y a une évolution évidente des substances actives sur la croissance en fonction de ce séjour au froid.

L'essai hypocotyle de Laitue (fig. 7) caractérise l'évolution de l'activité gibbérellique. Lors du premier prélèvement, les deux porte-greffes diffèrent nettement : alors que le « M 26 » présente deux maximums d'activité (Rf 0,4-0,6 et Rf 0,8-1,0), le « M 109 » n'en présente qu'un en début de chromatogramme (Rf 0-0,2). Quinze jours plus tard, au second prélèvement, on constate un déplacement important des zones actives qui s'étendent sur la totalité du chromatogramme (à l'exception de la zone de Rf 0,2-0,4) dans le cas du « M 26 », ou se localisent vers les Rf élevés (0,6-1,0) dans le cas du « M 109 ». Le troisième prélèvement présente de nouvelles modifications : le « M 26 » a une activité significative pour des Rf de 0,4 à 1,0, lors que le « M 109 » montre trois maximums (Rf 0-0,2, 0,4-0,6 et 0,8-1,0). Enfin, au dernier prélèvement, on constate une nouvelle modification : l'activité est répartie sur tout le chromatogramme, avec un maximum à Rf 0,4-0,6 dans le cas du « M 26 » et à 0,6-0,8 dans le cas du « M 106 ».

Donc, si les deux porte-greffes « M 26 » et « M 106 » diffèrent nettement quant à l'activité gibbérellique décelée par le test Laitue, il ne peut être question de caractériser l'un d'eux par cet essai biologique puisqu'il y a évolution de l'activité en fonction du temps de séjour en chambre froide du matériel végétal.

L'essai coléoptile de Blé (fig. 8) met en évidence une évolution très intéressante des inhibiteurs. Leur quantité est importante dans les extraits obtenus à la suite des deux premiers prélèvements, les fragments étant toujours très nettement plus courts que les témoins. Par contre, ces substances paraissent disparaître complètement à partir du troisième prélèvement qui correspond à un séjour au froid de 90 jours pour le matériel qui a fourni les extraits. Les deux porte-greffes ne présentent pas de différences et il est probable que cette modification de la quantité d'inhibiteurs dans les racines traduit une étape physiologique importante.

Ces derniers résultats suggèrent également que la meilleure caractérisation des deux porte-greffes par l'essai hypocotyle de Laitue est fournie par les prélèvements trois et quatre. En effet, la présence des inhibiteurs dans les extraits correspondant aux deux premiers doit modifier considérablement le comportement des plantules-tests des gibbérellines.

Une chromatographie sur couche mince des extraits contenant ces inhibiteurs inconnus avec une solution pure d'acide abscissique n'a pas permis de retrouver la moindre coïncidence avec une seule des propriétés de cette substance. Donc, les inhibiteurs détectés ne contiennent probablement pas d'acide abscissique.

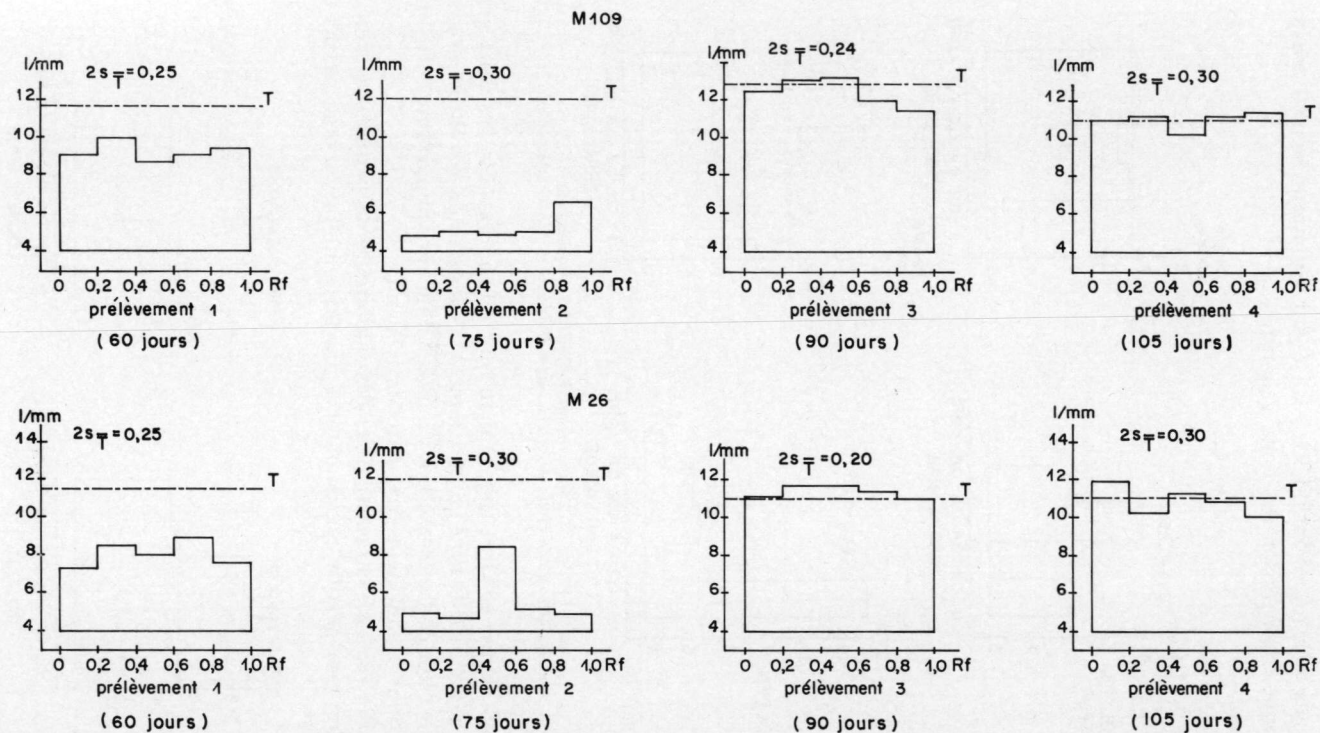


FIG. 8. — Comparaison de l'activité inhibitrice dans les extraits racinaires de deux porte-greffes de vigneur différente

4. — *Comparaison des activités dans les extrémités des pousses de la variété « Golden » et de l'un des mutants « spur »*

Trois essais biologiques ont pu être réalisés sur le matériel recueilli, ce qui permet une assez bonne comparaison des deux génotypes.

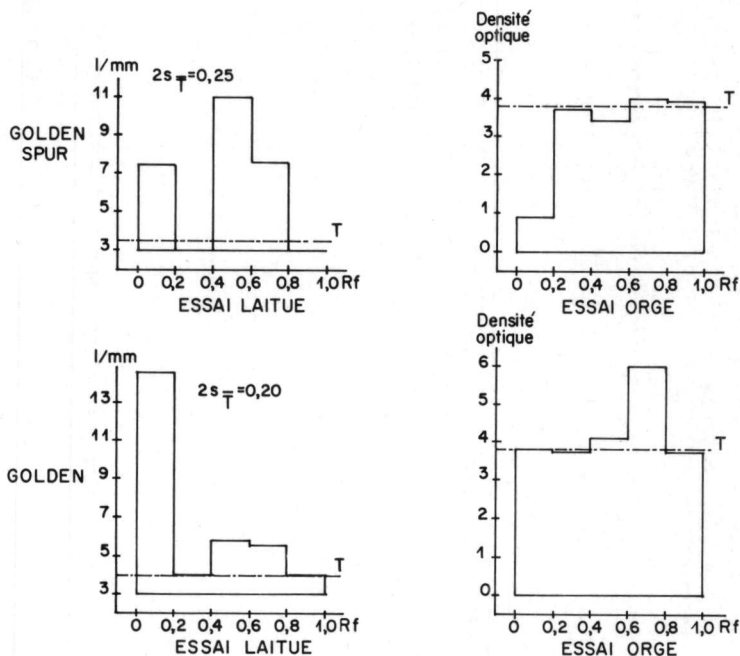


FIG. 9. — *Comparaison de l'activité gibbéréllique dans les extraits de bouts de pousses de « Golden » et de « Golden spur »*

Les essais Laitue et Orge (fig. 9) montrent que les extraits des deux génotypes présentent une activité de type gibbéréllique dans deux zones des chromatogrammes : pour des Rf de 0-0,2 et de 0,4-0,8. Il n'y a pas de différence importante entre « Golden » et « Golden Spur », sauf peut-être quantitativement.

L'essai Blé (fig. 10) caractéristique des inhibiteurs ne permet pas non plus de différencier les deux génotypes : on observe une forte inhibition pour des Rf de 0,2 à

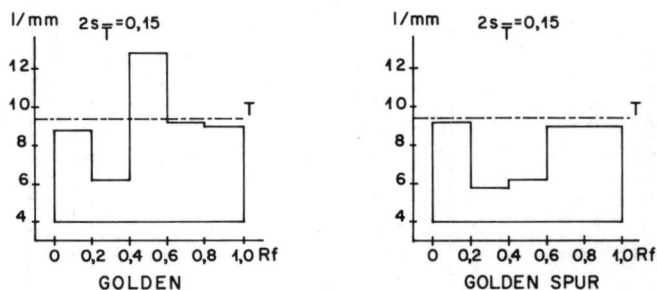


FIG. 10. — *Comparaison de l'activité inhibitrice dans des extraits de bouts de pousses de « Golden » et de « Golden spur » mesurée par l'essai coléoptile de Blé*

0,4 dans le cas de « Golden », de 0,2 à 0,6 dans le cas de « Golden Spur ». Compte tenu des variations possibles d'un chromatogramme à l'autre, les deux variétés sont très comparables.

IV. — DISCUSSION ET CONCLUSION

Quelle que soit la méthode de traitement du matériel utilisée, il a été constaté une activité de type gibbérellique dans les extraits racinaires des porte-greffes étudiés. La cohérence des résultats est bonne lorsque l'on considère les différentes techniques : broyage, diffusion ou lyophilisation, d'autant plus que de très faibles variations des conditions expérimentales peuvent provoquer des variations importantes des R_f au cours des chromatographies.

Chaque génotype présente un ou deux maxima d'activité, ce qui tend à faire supposer que la gamme de gibbérellines produites est très réduite. Cependant, une telle conclusion ne peut pas être avancée sans précautions. En effet, trois essais biologiques seulement ont été utilisés pour mettre en évidence l'activité gibbérellique et l'on sait qu'ils ne sont pas sensibles à toutes les gibbérellines (BAILIS et HILL, 1971).

Le fait expérimental nouveau concerne la distinction des porte-greffes en deux groupes en fonction de la présence de substances inhibitrices de nature inconnue (mais qui n'appartiennent vraisemblablement pas au groupe de l'acide abscissique). La coïncidence entre faible vigueur conférée et présence d'inhibiteurs est pour le moins troublante et demanderait à être vérifiée sur d'autres génotypes. Par contre la relation entre la présence d'inhibiteurs et la croissance n'apparaît pas dans la partie aérienne. Ainsi, les extraits des extrémités de pousses de la variété « Golden » et de son mutant « Golden spur » ne montrent pas de différences qualitatives pour ces substances. Peut-être se manifestent-elles à des étapes du développement autres que celles où les prélèvements ont été faits.

L'étude réalisée avec les prélèvements successifs de racines sur des marcottes préalablement soumises au froid a mis en évidence une importante variation des activités maximales, tant des « activateurs » supposés gibbérelliques que des inhibiteurs. Ces derniers disparaissent totalement des extraits lorsque les marcottes ont effectué un séjour au froid de 90 jours. Une relation avec la fin du repos hivernal serait plausible. En tous cas, cette évolution montre qu'il faut effectuer un traitement par le froid pendant un temps suffisamment long si l'on veut détecter correctement des activités gibbérelliques dans les extraits racinaires, les inhibiteurs perturbant fortement les essais biologiques.

S'il n'a pas été possible de caractériser chaque porte-greffe par une molécule particulière, il a cependant été mis en évidence que tous les génotypes étudiés présentaient deux ou trois (au maximum) zones d'activité sur les chromatogrammes et, qu'à des groupes de vigueur comparable correspondaient des groupes à taux d'inhibiteurs analogues. Cela devrait inciter à poursuivre l'étude sur une gamme de génotypes plus large. Cependant, l'existence de variations en fonction de l'état physiologique du matériel, ainsi que l'absence de différences appréciables entre deux variétés voisines, montrent bien que l'ensemble des relations greffon — porte-

greffe ne peut pas être simplement expliqué en termes de gibbérellines et d'inhibiteurs.

Il nous paraît nécessaire de souligner les restrictions que l'on doit apporter aux conclusions de ce travail.

CROZIER et REID (1971) ont montré que les racines de *Phaseolus coccineus* transforment des précurseurs fournis par la partie aérienne de la plante, en gibbérellines. Dans notre étude, nous avons éliminé l'influence du feuillage en supprimant les feuilles des marcottes. De plus, la partie aérienne n'était pas celle qui figure dans la combinaison greffon porte-greffe utilisée dans la pratique. Nous ne savons donc pas si, à partir de précurseurs communs, les différents génotypes de porte-greffes élaborent des gibbérellines spécifiques.

Un autre point important à connaître, est le devenir des substances trouvées dans les extraits de racines. Sont-elles toutes transportées et avec la même efficacité par les différents génotypes de porte-greffes de façon à atteindre la « cible » au moment opportun? Subissent-elles des transformations au cours du transport? Une étude des substances contenues dans la sève est un complément indispensable à celle qui a été réalisée.

Reçu pour publication en juin 1974.

REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent à remercier M. le Pr GUERN et M. POUGET, qui ont bien voulu assurer la tâche ingrate de relire le manuscrit et les aider de leurs conseils.

SUMMARY

DETERMINATION OF SUBSTANCES SIMILAR TO GIBBERELLINS AND INHIBITORS IN THE APPLE-TREE (*MALUS PUMILA*).

II. — THE STUDY OF SOME ROOTSTOCK AND VARIETAL GENOTYPES

The study of the growth hormones produced by the roots of clonal rootstock of the Apple-tree showed the presence of compounds, some behaving like gibberellins and some like inhibitors. The genotypes studied could not be recognized by a characteristic type of molecule. On the other hand, it is evident that genotypes of comparable vigour show similar rates of inhibitors.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BAILIS K. W., HILL T. A., 1971. Biological assays for gibberellins. *Bot. Rev.*, **37** (4), 437-479.
 CROZIER A., REID D. M., 1971. Do roots synthesize gibberellins? *Can. J. Bot.*, **49**, 967-975.
 DURON M., BRIAN C., 1973. Les gibbérellines : biosynthèse, action et méthodes de détection. *Annales Amélior. Plantes*, **23** (2), 163-179.
 DURON M., BRIAN C., 1975. Mise en évidence de substances analogues aux gibbérellines et d'inhibiteurs chez le Pommier (*Malus Pumila*). I. Méthodologie. *Ann. Amélior. Plantes*, **25** (2).

- ELIANSOON L., 1969. Growth regulators in *Populus tremula*. I. Distribution of auxin and growth inhibitors. *Physiol. Plant.*, **22**, 1288-1301.
- JONES R. L., PHILLIPS I. D. J., 1966. Organs of gibberellins synthesis in light grown sunflowers plants. *Plant Physiol.*, **41**, 1381-1386.
- KENDE H., SITTON D., 1967. The physiological significance of kinetin and gibberellin-like root hormones. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **19**, 526-531.
- MURAKAMI Y., 1968. Gibberellin-like substances in roots of *Oryza sativa*, *Pharbitis nil* and *Ipomea batatas* and the site of their synthesis in plants. *Bot. Mag. Tokyo*, **81**, 334-343.
- PHILLIPS I. D. J., JONES R. L., 1964. Gibberellin-like activity in bleeding sap of root systems of *Helianthus annuus* detected by a new dwarf pea epicotyl and other methods. *Planta (Berl.)*, **63**, 269-278.
-

SÉLECTION POUR LA RÉSISTANCE AU MILDIOU, *PHYTOPHTHORA INFESTANS* MONT., DE BARY CHEZ LA TOMATE

H. LATERROT

avec la collaboration technique de Hélène THOMAS

Station d'Amélioration des Plantes maraîchères,
Centre de Recherches d'Avignon, I. N. R. A.,
84140 Montfavet

RÉSUMÉ

La résistance verticale contrôlée par le gène *Ph* n'étant pas efficace envers les souches françaises de *Phytophthora infestans*, l'étude a porté sur la résistance horizontale de la lignée « WVa'63 » de GALLEGLY provenant de *Lycopersicon pimpinellifolium*. La résistance de « WVa'63 » est d'un niveau modéré mais efficace envers les isolats qui attaquent les lignées possédant uniquement le gène *Ph*. Cependant, certains isolats se sont montrés très agressifs sur « WVa'63 » en infection artificielle.

Avec les méthodes retenues, la sélection peut être conduite comme dans le cas d'un caractère monogénique semi-dominant, en prenant toutefois la précaution de retenir, lors des tris successifs, les plantes les plus résistantes. Les tris sévères en F_2 permettent de sélectionner avec peu d'erreurs, des plantes dont la descendance se montrera homogène pour un bon comportement envers *Phytophthora infestans*.

Trois méthodes de tri par inoculation artificielle ont été mises au point, chacune présente un intérêt à des moments différents d'un programme de sélection.

Une lignée du type « Saint-Pierre » résistante à la Verticilliose et au Mildiou a été obtenue à l'issue d'un programme de croisements effectué à partir de « WVa'63 ». Elle a été inscrite en 1973 au *Catalogue Officiel* sous le nom de « Piéraline », sa multiplication commerciale commence en 1974. D'autres lignées résistantes au Mildiou ont été obtenues dans des types divers. L'expérimentation de telles lignées permettra de définir leur intérêt réel lié à une diminution des traitements fongicides.

INTRODUCTION

Le Mildiou, causé par *Phytophthora infestans*, est tout aussi grave sur Tomate que sur Pomme de terre sans qu'il y ait de spécialisation raciale pour l'une ou l'autre de ces deux espèces.

Chaque année, cette maladie provoque des dégâts dans les cultures de tomates de plein champ des diverses zones françaises de production, sauf dans le Sud-Est qui produit les 2/3 des tomates. Si les attaques sont moins fréquentes dans cette région, les chutes de rendement y sont très importantes les années où elles se produisent.

En 1963, année où le Mildiou est apparu précocement dans le Sud-Est, le rendement régional à l'hectare est passé de la moyenne habituelle de 28 tonnes à 17 tonnes (C. T. I. F. L., 1967). A ces pertes de rendement s'ajoute la baisse de qualité des jus et concentrés provenant des parcelles atteintes.

L'épidémiologie du *Phytophthora infestans* sur Tomate a été étudiée par MESSIAEN qui a mis au point une méthode de prévision des épidémies (MESSIAEN *et al.*, 1968) permettant d'augmenter l'efficacité des traitements. Ceux-ci sont généralement effectués avec du mancozèbe, du manèbe ou du captafol.

L'historique de la résistance au Mildiou (GALLEGLY, 1960, 1968) montre que la recherche d'une source de résistance chez la Tomate a commencé un siècle plus tard que chez la Pomme de terre. L'épidémie de 1946 aux États-Unis a entraîné les premiers travaux dans ce domaine.

Plusieurs chercheurs ont rapidement mis en évidence une résistance dans l'espèce *Lycopersicon pimpinellifolium*. Cette résistance monofactorielle dominante, symbolisée par TR_1 puis Ph , est du type hypersensibilité. Elle n'est efficace qu'envers certaines souches de Mildiou (race 0). Cette résistance peut être qualifiée de résistance verticale.

Ultérieurement la lignée mexicaine « X907 W » appartenant à la même espèce fut utilisée par différents chercheurs nord-américains à des fins de sélection. Cette lignée possède le gène Ph et une résistance dite multigénique contrôlant la résistance à la race 1, virulente sur Ph (GALLEGLY, 1960). Les conditions de milieu et le stade physiologique des plantes influent beaucoup sur l'expression de cette résistance que l'on peut qualifier de résistance au champ, de résistance de type B ou de résistance horizontale selon la terminologie actuelle.

Les chercheurs soviétiques ont récemment entrepris des programmes de sélection également à partir de *Lycopersicon pimpinellifolium* et de *Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme* (SHIRKO et GLUSHCHENKO, 1971).

Une autre source de résistance a été mise en évidence en Irlande chez la variété « Atom » (GOODMAN, 1957). D'après les études réalisées en Allemagne (GÜNTHER *et al.*, 1970) le feuillage et les fruits de cette variété montrent un haut niveau de résistance au champ en présence de la race 1. La résistance paraît être contrôlée par au moins 2 gènes incomplètement dominants, symbolisés par Phf et $Phf-2$. Les mêmes chercheurs ont montré que la variété tchécoslovaque « Ruzový Ker » possède un certain niveau de résistance. Dans la descendance F_2 du croisement « Atom » $\times$ « Ruzový Ker » des plantes présentèrent un très haut niveau de résistance, ainsi cette dernière variété posséderait un facteur supplémentaire de résistance.

En France, au Centre de Recherches agronomiques d'Avignon, MESSIAEN et CLAUTRIER en 1958 étudièrent le comportement de la lignée « WV a 106 » possédant le gène Ph . Celui-ci s'avéra inefficace envers les isolats français. Les travaux ne reprirent qu'en 1965 lorsqu'on disposa de lignées résistantes à la race 1. Les travaux réalisés et les résultats obtenus sont rapportés ici.

1^{re} PARTIECOMPOTEMENT DE DIFFÉRENTES LIGNÉES
VIS-A-VIS DE *PHYTOPHTHORA INFESTANS*

Différentes lignées résistantes furent réunies à la Station et étudiées pour leur réaction vis-à-vis du Mildiou en conditions pratiques de culture. Parallèlement aux essais réalisés en plein champ, des essais de comportement de ces lignées, envers des isolats géographiques divers, furent conduits en chambre climatisée.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

La liste des lignées données résistantes étudiées à Montfavet est la suivante :

Lignées	Origine et année de réception	
« WVa'63 »	GALLEGLY West Virginia University (U. S. A.)	1963
« WVa 106 »	GALLEGLY — —	1963
« WVa 700 »	GALLEGLY — —	1963
F ₃ « X381-1-5 »	GALLEGLY — —	1965
F ₄ « X378-1-3-1 »	GALLEGLY — —	1965
F ₄ « X389-1-4-1 »	GALLEGLY — —	1965
F ₄ « X395-1-5-1 »	GALLEGLY — —	1965
F ₇ « X332-1-3-1-3-1-1 »	GALLEGLY — —	1965
« X305 » ...	GALLEGLY (indirecte) —	1966
« Ottawa 30 »	LYALL Ottawa Res. Stat., Ontario (Canada)	1964
« Ottawa 50 »	LYALL — —	1964
« New Hampshire Surecrop »	MEADER University of New Hampshire (U. S. A.)	1965
« Rockingham »	MEADER — —	1965

La lignée « WVa 106 » possède le gène *Ph* efficace envers la race 0. Les lignées « WVa 700 » (identique à « X907 W ») et « WVa'63 » possèdent, en plus de *Ph*, une résistance dite multigénique efficace envers la race 1.

Des hybrides F₁ furent réalisés en croisant des variétés sensibles avec « WVa'63 » et « Ottawa 50 ».

1. — Essais au champ en 1965

Un premier essai de comportement de ces lignées et hybrides fut réalisé à Montfavet en 1965.

Les plants élevés sous abri grillagé furent mis en place au champ, à l'âge de 38 jours, le 30 juillet, à raison de deux fois 5 plantes de chaque lignée et hybride. Deux variétés sensibles, « Saint-Pierre » et « Moneymaker », furent incorporées à l'essai comme témoins. Les plantes furent conduites sur une tige tuteurée, ébourgeonnées mais non arrêtées.

La contamination de la parcelle d'essai fut assurée en utilisant une technique, imaginée par MESSIAEN que l'on peut qualifier de « méthode d'infection naturelle renforcée ».

Des fruits verts et sains de la variété à fruits fermes « Roma VF » furent inoculés à la seringue le 8 septembre avec un mélange de quatre isolats géographiques de *Phytophthora infestans*, puis gardés en chambre à 18°C, durant 8 jours, laps de temps permettant au champignon d'envahir les fruits.

Ces fruits infectés constituant l'inoculum furent suspendus le 16 septembre dans la parcelle d'essai au-dessus des plantes, à raison de quatre fruits pour deux parcelles élémentaires jumelées de cinq plantes.

Les fructifications de *Phytophthora infestans* apparurent dès le 20 septembre à la surface des fruits suspendus.

Une nouvelle série de fruits infectés artificiellement remplaça le 11 octobre, les premiers qui commençaient à se décomposer.

Le système de notation utilisé s'inspire de l'échelle mise au point par la British mycological Society pour les travaux sur la Pomme de terre (MADEC *et al.*, 1956).

Ainsi nous notons :

- les dates d'apparition des premières taches sur le feuillage de chacune des variétés,
- les dates auxquelles le feuillage est détruit à 25, 50, 75, 95 et 100 p. 100 de son ensemble.

Des essais de comportement furent également réalisés dans trois régions où le Mildiou sévit chaque année ⁽¹⁾. Ainsi les lignées « WVa'63 », « Ottawa 50 » et des hybrides F₁ réalisés entre ces deux lignées et des variétés sensibles furent essayés sous infection naturelle :

- en Bretagne, à Landerneau ;
- dans la région parisienne, à Versailles ;
- dans le Sud-Ouest, à Bordeaux et Marmande.

2. — Essai au champ en 1966

Un nouvel essai fut réalisé avec les mêmes méthodes et un mélange des quatre mêmes isolats. L'inoculum fut apporté le 19 septembre. Les variétés furent cultivées à raison de trois répétitions de cinq plantes. Un troisième témoin sensible fut ajouté aux variétés « Saint Pierre » et « Money-maker », il s'agit de la lignée « Apéca », très précoce, à croissance déterminée, parent de l'hybride F₁ commercial « Montfavet 63-4 ».

Dans cet essai et les essais ultérieurs, les notations furent réalisées plante par plante et non plus pour l'ensemble du feuillage de chaque parcelle, ceci dans le but d'augmenter leur précision.

3. — Essais en chambre climatisée

Les essais furent effectués en collaboration avec la Station de Pathologie végétale d'Avignon en utilisant les isolats collectés dans diverses zones de culture de Tomate. Nous décrivons dans le détail la méthode qui fut utilisée et que nous continuons à préconiser.

Élevage des plantes.

La résistance dite multigénique ne s'exprimant pas au stade plantule ni chez les plantes étiolées (GALLEGLY, 1960), les essais sont réalisés en dehors de la période hivernale avec des plantes âgées de 6 semaines.

Les plantes sont élevées en serre en pots de 14 cm de diamètre dans un compost tourbeux, sans arrosage excessif et sans aucun traitement phytosanitaire. Les plantes ont une dizaine de feuilles développées au moment de l'inoculation.

Préparation de l'inoculum.

Les isolats de *Phytophthora infestans* sont entretenus en tube à essai sur le milieu nutritif suivant :

- pour 1 litre d'eau distillée : 50 g de farine d'avoine
- 15 g d'agar agar
- auxquels sont ajoutés 2 pois chiche (*Cicer arietinum*) par tube à essai.

Quinze jours avant une infection artificielle, les isolats sont repiqués pour multiplication sur ce même milieu et placés à 18°C à la lumière diffuse.

Au moment de l'infection, de l'eau distillée, conservée à la température du laboratoire, est versée dans chaque tube, la culture est délicatement raclée avec une spatule, la suspension de conidies est versée dans un flacon à travers une fine toile de nylon. A partir de 7 tubes de culture on peut obtenir un litre d'inoculum renfermant environ 50 000 conidies par ml. La concentration habituellement retenue pour nos essais varie de 30 000 à 60 000 conidies par ml.

⁽¹⁾ Nous tenons à remercier : M. MADEC, Station d'Amélioration de la Pomme de terre et des Plantes à bulbes, Landerneau (Finistère) ; M. BANNEROT et M. d'ERFURTH, Station d'Amélioration des Plantes, Versailles ; M. LAFON, Station de Pathologie végétale, Bordeaux, qui réalisèrent les essais de comportement de « WVa'63 » et qui nous aident encore actuellement pour l'étude de nos obtentions.

Contamination des plantes.

L'inoculum est pulvérisé en un fin brouillard recouvrant toutes les parties aériennes des plantes. Celles-ci possèdent une dizaine de feuilles développées au moment de l'inoculation, un litre d'inoculum permet d'infecter une cinquantaine de plantes.

Les plantes infectées sont placées dans une chambre climatisée à 18°C, équipée de tubes fluorescents à 0,80 m au-dessus de la tablette de culture. Les pots sont posés sur un lit de tourbe humide. Un film de polyéthylène est disposé pour recouvrir entièrement les plantes et assurer ainsi la saturation hygrométrique de l'atmosphère, le sol et les murs de la chambre sont humidifiés régulièrement.

La chambre est maintenue obscure pendant une vingtaine d'heures suivant la mise en place des plantes infectées. Elle est ensuite éclairée par les tubes fluorescents durant 10 heures par jour, l'intensité lumineuse étant d'environ 4 000 lux à 0,50 m de distance sous les tubes.

Dans les conditions indiquées, les conidies ne libèrent pas de zoospores mais germent directement en un filament qui pénètre dans les tissus des plantes infectées. La période d'incubation est de 3 à 4 jours.

Le quatrième jour après l'inoculation, le film de polyéthylène est enlevé juste avant la période d'obscurité. Les fructifications du champignon sont visibles et il est déjà possible à ce moment de reconnaître les plantes résistantes et sensibles d'après l'importance de la sporulation.

Observation de la réaction des plantes infectées.

L'observation définitive est réalisée 7 jours après l'inoculation, elle porte sur :

- le nombre de feuilles détruites,
 - le nombre total de feuilles attaquées,
 - l'importance des nécroses sur tige :
- (note 0 = aucune nécrose ; 5 = nécrose générale de la tige).

Le nombre de feuilles détruites est un critère simple du niveau de résistance sur les plantes telles que nous les utilisons, avec toujours une dizaine de feuilles développées.

Études réalisées.

Le comportement des lignées données résistantes et agronomiquement proches des tomates cultivées, « Ottawa 50 », « Rockingham », « New Hampshire Surecrop » et « WVa'63 », fut étudié envers les quatre mêmes isolats géographiques utilisés en mélange dans les essais au champ. Il s'agit d'isolats provenant de champs de tomates sensibles :

- du Sud-Ouest = Marmande et Bayonne,
- du Sud-Est = Montfavet et Saint Cannat.

Les variétés sensibles « Saint Pierre », « Supermarmande » et « Moneymaker » furent introduites dans l'essai ainsi que l'hybride F_1 « Moneymaker » $\times$ « WVa'63 ». L'essai comporta trois plantes par variété et par isolat.

Une autre étude porta sur le pouvoir pathogène de quatorze isolats géographiques divers (tabl. 5) provenant de tomates sensibles et de tomates résistantes et d'un isolat issu de Pomme de terre. Elle fut réalisée sur trois lignées de Tomate : « Moneymaker » (sensible), « WVa 106 » (gène *Ph*) et « WVa 700 » (gène *Ph* plus la résistance dite multigénique), à raison de deux plantes par lignée et par isolat.

Par ailleurs, les isolats perdant leur pouvoir pathogène plus ou moins rapidement en culture, le renouvellement des isolats tests doit être assuré. A cette fin, des isolements sont occasionnellement réalisés à partir de tiges, de feuilles ou le plus souvent de fruits attaqués provenant de diverses régions. Les isolats obtenus sont inoculés à une variété sensible et aux lignées « WVa'63 » et « WVa 106 », en chambre climatisée dans les conditions décrites précédemment, afin de connaître leur degré d'agressivité avant de les utiliser dans les essais. Ainsi chaque année 4 à 6 isolats sont étudiés.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

1. — *Essais au champ en 1965*

Les premières taches de Mildiou apparurent sur le feuillage le 6 octobre sur les variétés sensibles. Les notations furent effectuées jusqu'au 19 novembre, époque où les premières gelées détruisirent les plantes.

Dans le tableau I sont rapportés les résultats d'une partie des observations réalisées.

Les lignées « WVa 700 » et « Ottawa 30 » ne purent être distinguées l'une de l'autre tant pour leur bon comportement envers le Mildiou que pour leur morphologie. Elles correspondent bien à l'espèce *Lycopersicon pimpinellifolium*.

TABLEAU I

Comportement de lignées résistantes et d'hybrides F₁ au champ en 1965, sous « infection naturelle renforcée » avec Phytophthora infestans

Variétés	Dates d'apparition du Mildiou (2)	Dates où le dessèchement atteignit	
		25 p. 100 du feuillage (3)	95 p. 100 du feuillage (3)
« Saint-Pierre »	6/10	22/10	28/10
« Moneymaker »	6/10	22/10	28/10
« WVa'63 »	19/10	3/11	après le 19/11 (50 p. 100) (4)
« WVa 106 »	19/10	28/10	3/11
« WVa 700 »	19/10	12/11	après le 19/11 (25 p. 100) (4)
« X381 » (1)	19/10	3/11	après le 19/11 (75 p. 100) (4)
« X378 » (1)	19/10	28/10	16/11
« X389 » (1)	19/10	28/10	8/11
« X395 » (1)	19/10	3/11	après le 19/11 (75 p. 100) (4)
« X332 » (1)	22/10	3/11	après le 19/11 (50 p. 100) (4)
« Ottawa 30 »	19/10	12/11	après le 19/11 (25 p. 100) (4)
« Ottawa 50 » (1)	6/10	22/10	22/10
« New Hampshire Surecrop »	6/10	22/10	28/10
« Rockingham »	22/10	3/11	après le 19/11 (75 p. 100) (4)
F ₁ « Saint-Pierre » × « WVa'63 »	12/10	28/10	après le 19/11 (75 p. 100) (4)
F ₁ « Moneymaker » × « WVa'63 »	19/10	28/10	après le 19/11 (75 p. 100) (4)
F ₁ « Saint-Pierre » × « Ottawa 50 »	6/10	19/10	28/10
F ₁ « Moneymaker » × « Ottawa 50 »	12/10	22/10	28/10

(1) Lignées à croissance déterminée.

(2) Date d'apparition des premières taches sur la variété.

(3) Date à laquelle la maladie atteignit le stade indiqué sur l'ensemble du feuillage de la variété.

(4) Pourcentage de feuillage desséché en fin d'essai, le 19 Novembre, dans le cas des variétés non atteintes à 95 p. 100.

La lignée « WVa 106 », qui possède le gène *Ph*, montra une résistance moins élevée envers le Mildiou. Elle présente les caractéristiques morphologiques de l'espèce *L. esculentum* var. *cerasiforme*.

Les variétés « WVa'63 » et « Rockingham » et les lignées « X » de GALLEGLY montrèrent un bon comportement vis-à-vis du Mildiou et s'avèrent intéressantes sur le plan agronomique bien que non directement cultivables en France. Il est à noter que parmi les lignées « X », toutes à « croissance déterminée », les plus précoces, en l'occurrence « X378 » et « X389 » furent les plus touchées.

Les lignées « Ottawa 50 » et « New Hampshire Surecrop » furent aussi sensibles que les témoins sensibles. Le comportement des hybrides F_1 « Saint-Pierre » $\times$ « Ottawa 50 » et « Moneymaker » $\times$ « Ottawa 50 » confirma la sensibilité d'« Ottawa 50 ».

Les hybrides F_1 « Saint-Pierre » $\times$ « WVa'63 » et « Moneymaker » $\times$ « WVa'63 » eurent un comportement intermédiaire entre celui de leur parent sensible et celui de « WVa'63 ».

Le Mildiou attaqua les fruits de l'ensemble des variétés et hybrides F_1 .

Les essais de comportement réalisés en Bretagne (tabl. 2), dans la région parisienne et le Sud-Ouest, en conditions naturelles d'infection, confirmèrent les résultats obtenus à Montfavet. Les premières taches apparurent toujours plus tardivement sur « WVa'63 » que sur les variétés sensibles et la défoliation de cette variété fut dans tous les cas beaucoup moins rapide que chez les variétés sensibles. La défoliation des hybrides F_1 « Moneymaker » $\times$ « WVa'63 » et F_1 « Apéca » $\times$ « WVa'63 » fut moins rapide que celle de « Moneymaker » et « Apéca » mais ces hybrides se montrèrent plus sensibles que leur parent résistant « WVa'63 ». La lignée « Ottawa 50 » se montra aussi sensible que les variétés « Moneymaker » et « Apéca » dans les trois régions.

TABLEAU 2

*Comportement de lignées résistantes et d'hybrides F_1 en 1965
en infection naturelle au champ en Bretagne*

(essai réalisé par M. MADEC, « Station d'Amélioration de la Pomme de terre
et des Plantes à bulbes » I. N. R. A., Ploudaniel, Finistère)

Variétés	Dates d'apparition du Mildiou (1)	Dates où le dessèchement atteignit	
		25 p. 100 du feuillage (2)	95 p. 100 du feuillage (2)
« Moneymaker »	21/7	3/8	19/8
« Apéca »	18/7	28/7	10/8
« WVa'63 »	3/8	21/8	7/9
« Ottawa 50 »	24/7	30/7	10/8
F_1 « Moneymaker » $\times$ « WVa'63 »	3/8	10/8	5/9
F_1 « Apéca » $\times$ « WVa'63 »	24/7	10/8	1/9
F_1 « Moneymaker » $\times$ « Ottawa 50 »	27/7	4/8	16/8
F_1 « Apéca » $\times$ « Ottawa 50 »	21/7	1/8	14/8

(1) Dates d'apparition des premières taches sur la variété.

(2) Dates auxquelles la maladie atteignit le stade indiqué sur l'ensemble du feuillage de la variété (moyenne de 2 blocs de 9 plantes par variété ou hybride).

Ainsi, la résistance verticale contrôlée par le gène *Ph* s'étant montrée inefficace, on peut attribuer le bon comportement de « WVa 700 » à la résistance dite multi-génique par GALLEGLY et que nous préférons qualifier d'horizontale. Si « WVa'63 », « Rockingham » et les lignées « X » possèdent également ce type de résistance, il n'en

TABLEAU 3

*Comportement de lignées résistantes et d'hybrides F_1 , au champ en 1966,
sous « infection naturelle renforcée » avec *Phytophthora infestans**

Date à laquelle la maladie atteignit le stade considéré sur 50 p. 100 des plantes

Variétés	Dates d'apparition des premières taches	Date où le dessèchement atteint	
		25 p. 100 du feuillage	95 p. 100 du feuillage
« Saint-Pierre »	7/10	17/10	28/10
« Moneymaker »	7/10	17/10	28/10
« Apéca »	7/10	17/10	19/10
« WVa'63 »	17/10	28/10	après le 10/11 (0 p. 100) ⁽¹⁾
« X305 »	17/10	26/10	après le 10/11 (20 p. 100) ⁽¹⁾
« X378 »	17/10	24/10	après le 10/11 (20 p. 100) ⁽¹⁾
« X389 »	19/10	26/10	après le 10/11 (20 p. 100) ⁽¹⁾
F_1 « Moneymaker » × « WVa'63 »	12/10	21/10	après le 10/11 (0 p. 100) ⁽¹⁾
F_1 « Apéca » × « WVa'63 »	12/10	19/10	après le 10/11 (0 p. 100) ⁽¹⁾

⁽¹⁾ Pourcentage de plantes ayant 95 p. 100 de leur feuillage desséché en fin d'essai le 10 novembre, dans les cas où moins de 50 p. 100 des plantes ont atteint ce stade de dessèchement (Les résultats indiqués dans ce tableau ne sont pas parfaitement comparables à ceux fournis dans le tableau 1, voir le chapitre matériel et méthodes).

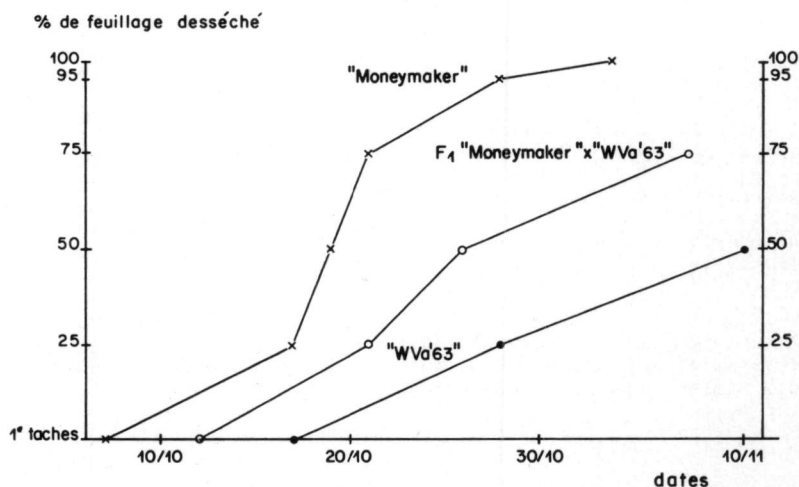


FIG. 1. — Évolution de l'épidémie de Mildiou sur les variétés « Moneymaker », « WVa'63 » et l'hybride F_1 « Moneymaker » × « WVa'63 » après « infection naturelle renforcée », au champ en 1966

Dates d'apparition des premières taches de Mildiou et dates auxquelles le dessèchement foliaire atteignit le pourcentage indiqué de feuillage sur 50 p. 100 des plantes

est pas de même des autres lignées données comme résistantes : « Ottawa 50 » et « New Hampshire Surecrop ». Il est probable que la résistance attribuée à ces dernières dépend du gène *Ph*.

2. — Essai au champ en 1966

Les premières taches de Mildiou apparurent le 1^{er} octobre sur les variétés sensibles. Les notations furent effectuées jusqu'au 10 novembre, date précédant la première gelée. Dans le tableau 3 est rapportée une partie des observations ainsi que dans la figure 1.

Les résultats de 1966 confirmèrent ceux de 1965, tant du point de vue de la résistance de « WVa'63 » et des lignées « X » de GALLEGLY que de la réaction intermédiaire des hybrides F₁.

3. — Essais en chambre climatisée

Comportement de lignées données résistantes.

Les résultats concernant le comportement envers quatre isolats de lignées données résistantes et agronomiquement intéressantes sont rapportés dans le tableau 4.

TABLEAU 4

Comportement de lignées et d'un hybride résistants vis-à-vis de 4 isolats de Phytophthora infestans, en chambre climatisée

Variétés	Nombre de feuilles desséchées sur 10 feuilles par plante et par isolat				Note d'importance des nécroses sur tige (note 0 à 5)			
	Bayonne	Marmande	Montfavet	St Cannat	Bayonne	Marmande	Montfavet	St Cannat
« Saint-Pierre »	6	6,7	6	6,3	3	2	1,7	1,7
« Supermarmande »	9	8	9,3	10	3	2,7	3	3
« Moneymaker »	5,6	4	6,7	8	3	1,7	2,3	2,7
« Ottawa 50 »	4,6	4,3	8,3	8,3	1	0,3	3	3
« Rockingham »	2,3	1,5	4,5	3,7	0	0	2	0,3
« New Hampshire Surecrop »	3	2	7	5,7	0	0	2,3	2,3
« WVa'63 »	2	1,7	2	2,7	0,3	0	0	0,3
F ₁ « Moneymaker » × « WVa'63 » ..	2,3	2	3	3,3	0	0	0	0,3

Les variétés témoins sensibles furent fortement attaquées par les quatre isolats. Les lignées « Ottawa 50 », « Rockingham », et « New Hampshire Surecrop » furent relativement peu attaquées par les deux isolats du Sud-Ouest. Parmi ces trois variétés, « Rockingham » fut également peu attaquée par les deux isolats du Sud-Est contrairement aux deux autres variétés qui furent très attaquées par ceux-ci.

TABLEAU 5. — *Comportement de 3 lignées de Tomate : « Moneymaker » (sensible) « WVa 106 » (gène Ph) « WVa 700 » (gène Ph plus résistance dite multigénique) envers 15 isolats de Phytophthora infestans*

Origine des isolats	Lignées de Tomate infectées	Nombre de feuilles		Importance des nécroses sur tige (note 0 à 5)
		atteintes	desséchées	
1. <i>Tomates sensibles</i>				
— Sud-Ouest :				
Bordeaux	« Moneymaker »	10	0	1
	« WVa 106 »	10	0	1
	« WVa 700 »	6	0	0
Bayonne n° 1	« Moneymaker »	9	0	0
	« WVa 106 »	8	0	0
	« WVa 700 »	1,5	0	0
Bayonne n° 2	« Moneymaker »	10	6,5	3
	« WVa 106 »	9,5	3,5	0
	« WVa 700 »	6	1	0
Marmande n° 1	« Moneymaker »	10	4,5	2
	« WVa 106 »	9	0	0,5
	« WVa 700 »	4,5	0	0
Villeneuve sur Lot	« Moneymaker »	10	10	4,5
	« WVa 106 »	10	10	4,5
	« WVa 700 »	9	2,5	1
Bizanos	« Moneymaker »	10	1	2,5
	« WVa 106 »	10	2,5	2,5
	« WVa 700 »	6	0	0
Saint-Martin de Hinx	« Moneymaker »	9,5	0	2
	« WVa 106 »	9,5	0	2
	« WVa 700 »	5	0	0,5
— Sud-Est :				
Perpignan	« Moneymaker »	10	5	2,5
	« WVa 106 »	10	1	1
	« WVa 700 »	7	0	0
Lapalud	« Moneymaker »	10	10	4,5
	« WVa 106 »	10	10	4,5
	« WVa 700 »	9,5	3	1,5
Montfavet n° 1	« Moneymaker »	5	0	0
	« WVa 106 »	5	0	0
	« WVa 700 »	2	0	0
Montfavet n° 2	« Moneymaker »	9,5	3	2
	« WVa 106 »	9,5	0	0
	« WVa 700 »	3	0	0
Albenga (Italie)	« Moneymaker »	9	0	0
	« WVa 106 »	10	0	0
	« WVa 700 »	7	0	0
2. <i>Tomates résistantes</i>				
Landerneau	« Moneymaker »	10	4	2,5
	« WVa 106 »	10	5	3
	« WVa 700 »	5	0	0
Marmande n° 2	« Moneymaker »	9,5	0	1
	« WVa 106 »	9,5	0	1
	« WVa 700 »	3,5	0	0
3. <i>Pomme de terre</i>				
Combloux (Savoie)	« Moneymaker »	5,5	0	0
	« WVa 106 »	5,5	0	0
	« WVa 700 »	1,5	0	0

La lignée « WVa'63 » et l'hybride F_1 « Moneymaker » $\times$ « WVa'63 » montrèrent un niveau élevé de résistance vis-à-vis des quatre isolats.

Des essais ultérieurs confirmèrent ces résultats.

Pouvoir pathogène d'une collection d'isolats.

Les résultats de l'étude de la virulence des quinze isolats sur les variétés « Moneymaker », « WVa 106 » et « WVa'63 » sont résumés dans le tableau 5 et regroupés dans le tableau 6.

TABLEAU 6

Comportement moyen de 3 lignées de tomate : « Moneymaker » (sensible), « WVa 106 » (gène Ph), « WVa 700 » (gène Ph plus résistante dite multigénique) envers l'ensemble de 15 isolats de Phytophthora infestans (moyenne du tableau 5)

Lignées de Tomate infectées	Nombre de feuilles		Importance des nécroses sur tiges (note 0 à 5)
	atteintes	desséchées	
« Moneymaker »	9,1	2,9	1,8
« WVa 106 »	9	2,1	1,3
« WVa 700 »	5,1	0,4	0,2

« WVa 106 » montra un comportement identique ou très voisin de celui du témoin sensible « Moneymaker » envers tous les isolats, quelque soit leur degré d'agressivité. Ainsi la résistance verticale (gène *Ph*) s'avère inefficace envers la série d'isolats étudiés, tous appartiendraient donc à la race 1. Ceci confirme les observations réalisées par MESSIAEN et CLAUTRIER en 1958 avec une autre série d'isolats collectés en France.

« WVa 700 » se montra nettement moins sensible que « WVa 106 » envers tous les isolats, y compris ceux issus d'isolements réalisés à partir de tomates résistantes « WVa'63 », cultivées sous infection naturelle en Bretagne et dans le Marmandais. Par suite, le bon comportement, observé dans les essais au champ, de « WVa 700 » et de « WVa'63 » serait dû uniquement à la résistance dite multigénique par GALLEGLY ou « résistance horizontale ».

Ultérieurement, au cours de l'étude de nouveaux isolats, en chambre climatisée deux d'entre eux se montrèrent très agressifs sur la variété sensible, choisie comme témoin, et sur « WVa'63 ». Ils proviennent d'isolements réalisés en 1971 à partir d'un fruit de la variété sensible « Heinz 1706 » d'un champ de Saint-Nicolas de la Grave (Tarn et Garonne) et en 1972 d'un fruit de la lignée résistante « X385 » de GALLEGLY d'une parcelle d'essai à Balandran près de Bellegarde (Gard). L'existence de souches agressives envers lesquelles la résistance de « WVa'63 » paraît insuffisante a été soulignée en Israël (KEDAR *et al.*, 1959). Notre expérience ne nous permet pas de savoir s'il s'agit de souches dont le pouvoir pathogène s'est élargi ou s'il s'agit d'une augmentation de l'agressivité comme cela est parfois admis (GALLEGLY, 1960).

CONCLUSIONS

Les résultats des essais de comportement des lignées résistantes introduites des États-Unis et du Canada ont montré que si la résistance verticale (*Ph*) de « WVa 106 » est inefficace envers les souches de *Phytophthora infestans* françaises, la résistance horizontale provenant de « WVa 700 » procure une résistance relative envers celles-ci. Cette résistance s'exprime sur les feuilles et la tige mais pas sur les fruits qui sont atteints comme ceux des sensibles en cas de forte infection.

Parmi les lignées voisines de nos variétés cultivées, « WVa'63 » de GALLEGLY, donnée comme possédant à la fois la résistance verticale (gène *Ph*) et la résistance horizontale issue de « WVa 700 », s'avère la plus intéressante par ses caractéristiques et son comportement agronomiques. Cette lignée a montré une relative résistance tant au champ à Montfavet que dans les essais réalisés en Bretagne, dans la région parisienne et le Sud-Ouest et dans les essais en chambre climatisée avec des isolats divers. Il nous paraît intéressant d'utiliser cette résistance bien qu'elle soit d'un niveau modéré et même parfois insuffisant, du moins en infection artificielle avec certains isolats.

Parmi les lignées résistantes à croissance déterminée de la série « X » de GALLEGLY une certaine relation paraît exister entre un moindre degré de résistance et une plus grande précocité. Nous n'avons pas encore les informations permettant de conclure quant à la possibilité de sélectionner des lignées très précoces et possédant un même niveau de résistance que le géniteur « WVa'63 ».

Les hybrides F_1 réalisés entre « WVa'63 » et des variétés sensibles ont un niveau de résistance légèrement inférieur à « WVa'63 ». Leur intérêt pourra être apprécié par les praticiens puisque le commerce grainier offre maintenant des hybrides de ce type.

Un programme d'introggression de la résistance de « WVa'63 » dans un type variétal très cultivé, en l'occurrence le type « Saint-Pierre », fut entrepris afin de permettre de juger son avantage pratique.

2^e PARTIEPROGRAMME DE SÉLECTION
POUR LA RÉSISTANCE AU *PHYTOPHTHORA INFESTANS*

L'étude de l'hérédité de la résistance de « WVa'63 » fut conduite en même temps que les premiers travaux de sélection.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. — Étude génétique de la résistance

Les descendance F_2 des croisements « Moneymaker » × « WVa'63 » et « Apéca » × « WVa'63 » furent étudiées en chambre climatisée pour leur disjonction après inoculation d'un isolat du Sud-Ouest d'agressivité moyenne.

L'étude fut réalisée en 2 essais, le nombre de plantes de chaque F_2 étant respectivement de 160 et 202. Les témoins sont indiqués dans le tableau 7.

2. — Introgression de la résistance dans un type variétal cultivé en France

Le type variétal « Saint Pierre » étant très cultivé et assurant une partie importante de la production tardive de plein champ, fut retenu pour ce travail. Il a une végétation vigoureuse, une « croissance indéterminée », une production tardive de gros fruits ronds légèrement aplatis. La version « Piéralbo » de ce type fut choisie à cause de sa résistance à la Verticilliose conférée par le gène dominant *Ve*.

3. — Programme de recroisements

La technique utilisée fut celle des recroisements à partir de la lignée « WVa'63 », résistante au Mildiou et à la Verticilliose.

Le croisement F_1 « WVa'63 » $\times$ « Piéralbo » fut suivi de 3 recroisements successifs en retenant à chaque fois les plantes présentant en chambre climatisée le plus haut niveau de résistance (tabl. 8). Après le tri, celles-ci sont dépouillées des feuilles atteintes et abondamment traitées au manèbe avant d'être placées en serre puis croisées avec le parent récurrent « Piéralbo ».

Après 3 recroisements, une autofécondation fut réalisée, les plantes provenant de celle-ci furent sévèrement triées en chambre climatisée, puis les descendances des plantes les plus résistantes furent cultivées au champ sous « infection naturelle renforcée ».

A ce stade, les plantes les plus voisines de la variété « Piéralbo » furent retenues puis une sélection généalogique pour les caractères agronomiques fut opérée.

Le contrôle des descendances retenues s'avérant matériellement impossible avec les méthodes d'infections artificielles utilisées jusqu'alors, la recherche d'une méthode plus rapide fut entreprise.

4. — Méthode de contrôle des lignées résistantes obtenues

Les travaux conduits à l'Institut du Tabac de Bergerac pour l'étude de la résistance du tabac à *Peronosporatabacina* (SCHILTZ et COUSSIRAT, 1969) au stade cotylédon furent repris partie à Montfavet sur la Tomate dans le but de mettre au point une méthode rapide de tri pour la résistance.

La méthode retenue est la suivante :

Les lignées à essayer sont semées en serre en dehors de la période hivernale, en terrines de sable siliceux désinfecté à la vapeur. L'arrosage est réalisé à l'eau du robinet, car d'après nos essais, l'arrosage avec une solution nutritive (solution de KNOP) ne permet pas de mettre en évidence la résistance de « WVa'63 ». Nous observons le même phénomène que chez le tabac où, au stade cotylédonaire, les variétés résistantes au Mildiou, se montrent sensibles en cas d'apport de métabolites extérieurs (SCHILTZ et IZARD, 1962).

Lorsque les plantules ont les cotylédons étalés et la première feuille qui pointe, soit 12 à 14 jours après le semis, les terrines sont placées en chambre climatisée et l'inoculation est réalisée selon la technique décrite dans la première partie, en allongeant à 16 h la période d'éclairage journalière.

Le tri des lignées peut être effectué dès le lendemain de la fin de la période d'incubation, en règle générale il est réalisé trois jours après celle-ci, soit une semaine après l'inoculation.

Les plantules peuvent alors être réparties en 4 classes :

- classe 0 = aucun symptôme, plantules indemnes,
- 1 = cotylédons plus ou moins attaqués,
- 2 = cotylédons, axe hypocotylé et/ou première feuille attaqués,
- 3 = plantules totalement desséchées.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

1. — Disjonctions observées en F_2

Le critère retenu pour apprécier le comportement des plantes après inoculation de *Phytophthora infestans* est le nombre de feuilles desséchées par plante. Les résultats sont présentés dans le tableau 7 et la figure 2.

En regroupant les plantes F_2 en deux catégories séparées au niveau de la classe la plus élevée à laquelle furent notées les F_1 résistantes correspondantes, on a :

— F_2 « Moneymaker » $\times$ « WVa'63 »,

Plantes résistantes ; jusqu'à la classe 5 comprise = 71 p. 100 ;

— F_2 « Apéca » $\times$ « WVa'63 »,

Plantes résistantes, jusqu'à la classe 5 comprise = 65 p. 100.

TABLEAU 7

*Disjonctions pour la résistance à Phytophthora infestans au niveau de deux descendance F_2 .
Inoculation en chambre climatisée, avec un même isolat*

Variétés ou descendance observées	Nombre de plantes ayant le nombre suivant de feuilles desséchées sur 10 feuilles							
	2	3	4	5	6	7	8	9
Premier essai :								
« WVa'63 »	7	5						
« Moneymaker »					8	6		
F_1 « Moneymaker » $\times$ « WVa'63 » ...			6	4				
F_2 « Moneymaker » $\times$ « WVa'63 » ...	9	21	45	38	6	5	20	16
Deuxième essai :								
« WVa'63 »	6	3	2					
F_1 « Montfavet 63-4 » (sensible)				3	4	2		
F_1 « Montfavet 63-5 » (sensible)				2	2	2	1	
F_1 « Apéca » $\times$ « WVa'63 »			4	3				
F_2 « Apéca » $\times$ « WVa'63 »	7	29	53	44	14	21	25	9

Ainsi après inoculation, dans les conditions décrites avec un isolat d'agressivité moyenne, les disjonctions observées ne sont pas très différentes de celles que l'on rencontrerait dans le cas d'une résistance monofactorielle semi-dominante ($P\chi^2$ de 6,18 = 0,06).

D'autres informations sur l'hérédité de la résistance furent obtenues au cours du programme de croisements rapporté ci-après.

2. — Disjonctions observées à chaque étape des croisements

Le tableau 8 rapporte les disjonctions observées au niveau des trois premiers croisements après infection en chambre climatisée.

La disjonction observée au niveau de la descendance de 6 plantes résistantes issues du troisième croisement est également indiquée.

Les résultats concernant l'étude du premier croisement sont en outre représentés figure 2.

L'hybride F_1 « Piéralbo » $\times$ « WVa'63 » eut un comportement intermédiaire

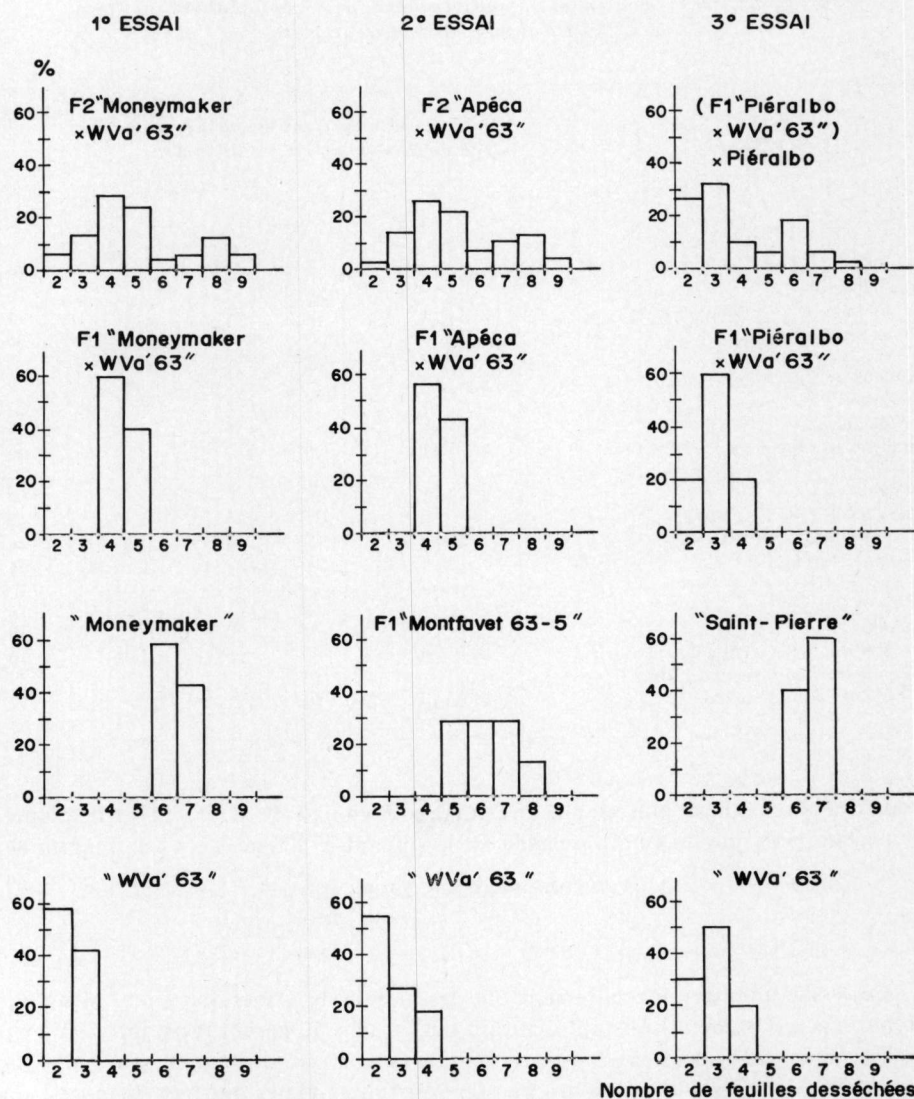


FIG. 2. — Disjonctions pour la résistance à *P. infestans* au niveau de deux descendance F_2 et d'un recroisement (pourcentage de plantes ayant un nombre donné de feuilles desséchées)

TABLEAU 8

*Disjonctions observées au cours des premier, deuxième et troisième recroisements de « WVa'63 » par « Piéralbo » et dans les descendance de plantes résistantes issues du troisième recroisement ; après inoculation avec *Phytophthora infestans*, en mélange d'isolats, en chambre climatisée*

Lots étudiés	Nombre de plantes ayant le nombre suivant de feuilles desséchées sur 10 feuilles										Total
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
« WVa'63 »		3	5	2							10
« Saint-Pierre »						4	6				10
F ₁ « Piéralbo » × « WVa'63 » ..		1	3	1							5
Premier recroisement		13	16	5	3	9	3	1			50
« WVa'63 »	1		3	1	1						6
« Piéralbo »						2	1	2	2	1	8
F ₁ « Piéralbo » × « WVa'63 » ..			1	3	1		1				6
Deuxième recroisement	3	5	9	11	11	23	15	7	3	5	92
« WVa'63 »			2	2	2						6
« Piéralbo »							3	3			6
F ₁ « Piéralbo » × « WVa'63 » ..					4	2					6
Troisième recroisement				4	17	1	11	16	4	1	54
« WVa'63 »	7	3									10
« Piéralbo »					7	3					10
F ₁ « Piéralbo » × « WVa'63 » ..			3	6	1						10
Descendances autofécondées des troisièmes recroisements	3	2	14	30	49	49	3				150

à ceux des parents mais plus proche de celui de « WVa'63 ». Le pourcentage de plantes moins attaquées que le témoin sensible est le suivant à chaque étape du programme :

1 recroisement = 74 p. 100

2 — = 42 p. 100

3 — = 41 p. 100.

Ces essais montrèrent clairement que les plantes F₁ « Piéralbo » × « WVa'63 » eurent un comportement résistant d'autant plus proche du parent résistant « WVa'63 » que l'intensité de l'infection — estimée d'après la réaction du témoin sensible — est moins forte. Il en est de même des plantes résistantes issues des recroisements, une forte proportion de plantes parurent peu attaquées parmi les plantes issues du premier recroisement, dans un essai où les F₁ « Piéralbo » × « WVa'63 », et le témoin sensible, furent moins attaqués que dans les essais ultérieurs concernant les autres niveaux de recroisement.

Parmi les 150 plantes issues de l'autofécondation de 9 des plantes résistantes issues du troisième recroisement, seules 5 plantes présentèrent le niveau de résistance de « WVa'63 ». Cependant, parmi les 9 plantes résistantes dont la descendance fut

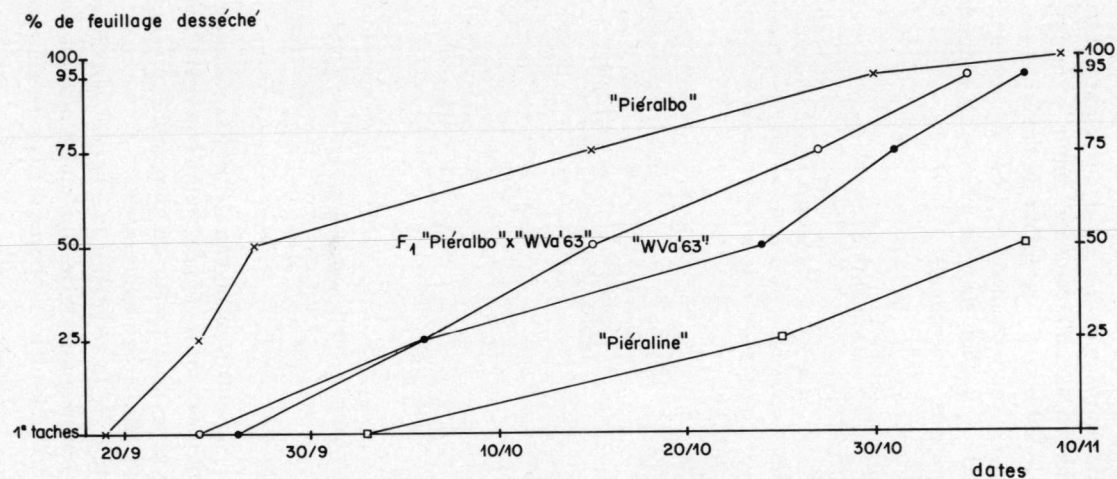


FIG. 3. — Évolution de l'épidémie de Mildiou sur la nouvelle variété résistante « Piéraline » après « infection naturelle renforcée », au champ en 1969
Dates d'apparition des premières taches de Mildiou et dates auxquelles le dessèchement foliaire atteignit le pourcentage indiqué de feuillage sur 50 p. 100 des plantes

étudiée au champ, nous en avons retenu 4 légèrement plus attaquées que « WVa'63 » dans cet essai, leur descendance s'avéra très résistante comme nous le verrons plus loin.

3. — Comportement des lignées résistantes obtenues

Les descendance par autofécondation de 9 des plantes les moins touchées, étudiées sous « infection naturelle renforcée » au champ se montrèrent homogènes pour leur réaction envers le Mildiou, à l'exception de l'une d'entre elles qui montra une disjonction très nette. Le comportement de l'une de ces lignées est rapportée dans le tableau 9 et la figure 3, il s'agit de celle retenue au cours des essais agronomiques et que nous dénommons « Piéraline ».

TABLEAU 9

*Comportement au champ après « infection naturelle renforcée »
avec Phytophthora infestans d'une version résistante du type « Saint-Pierre ».
Date à laquelle la maladie atteint le stade considéré sur 50 p. 100 des plantes*

Lots étudiés	Dates d'apparition des premières taches	Dates où le dessèchement atteint	
		25 p. 100 du feuillage	95 p. 100 du feuillage
« Piéralbo »	19/9	24/9	30/10
« WVa'63 »	26/9	6/10	7/11
F ₁ « Piéralbo » × « WVa'63 »	24/9	6/10	4/11
« Piéraline »	3/10	25/10	après le 13/11 (0 p. 100) ⁽¹⁾

(¹) Pourcentage de plantes ayant 95 p. 100 de leur feuillage desséché en fin d'essai, le 13 novembre.

La variété « Piéraline » montra un niveau de résistance supérieur à celui de « WVa'63 », il en fut de même des 7 autres lignées sœurs homogènes pour la résistance. Ceci laisse supposer que des gènes modificateurs renforçant l'expression de la résistance existeraient dans le type variétal « Saint-Pierre ».

Les essais de vérification de la résistance des lignées obtenues, aux différents niveaux de leur sélection généalogique et de leur multiplication, furent réalisés en terrine au stade juvénile, le tableau 10 rapporte à titre d'exemple les résultats de trois de ces essais.

Des lignées résistantes issues des F₂ « Moneymaker » × « WVa'63 » et « Apéca » × « WVa'63 » furent contrôlées selon la même méthode et les résultats obtenus confirment l'intérêt de celle-ci pour un contrôle rapide de nombreux lots.

Certaines de ces lignées montrèrent comme « Piéraline » une résistance sensiblement plus élevée que celle du géniteur « WVa'63 ».

TABLEAU 10

Réaction au stade juvénile, après inoculation avec *Phytophthora infestans*, d'une version résistante du type « Saint-Pierre » : « Piéraline »

Lots étudiés	Nombre de plantules classées avec la note suivante				
	0	1	2	3	Total
Premier essai :					
« Piéralbo »	—	—	1	18	19
« WVa'63 »	5	8	7	—	20
« Piéraline »	3	16	1	—	20
Deuxième essai :					
« Piéralbo »	—	—	7	13	20
« WVa'63 »	2	15	3	—	20
« Piéraline »	4	16	—	—	20
Troisième essai :					
« Piéralbo »	—	—	3	16	19
« Piéraline »	8	12	—	—	20

0 : plantules indemnes,

1 : cotylédons plus ou moins attaqués,

2 : cotylédons, axe hypocotylé et/ou première feuille attaqués,

3 : plantules totalement desséchées.

CONCLUSIONS

L'étude des descendance F_2 et des croisements avec les parents sensibles ne permet pas de définir avec précision le déterminisme génétique de la résistance horizontale. Selon GALLEGLY, « WVa'63 » apporte, outre le gène dominant *Ph*, un nombre inconnu de gènes à action quantitative pour la résistance envers la race 1. Les résultats que nous avons obtenus, avec nos méthodes particulières d'infection artificielle, permettent de dire que la sélection peut être conduite comme si la résistance horizontale était déterminée par un gène semi-dominant pour l'expression duquel le contexte génétique paraît jouer un grand rôle ainsi que le degré d'agressivité des souches, la pression d'inoculum, le stade physiologique des plantes et les conditions du milieu.

Les travaux de sélection pour ce type de résistance sont relativement aisés à condition d'effectuer des tris sévères aux différentes étapes des programmes.

Les infections artificielles, en chambre climatisée, au stade floraison, permettent de retenir avec certitude les plantes les plus résistantes aussi bien en F_2 qu'au niveau des croisements. Les « infections naturelles renforcées » réalisées au champ sur plantes adultes permettent d'effectuer le choix des lignées les plus résistantes et les plus intéressantes du point de vue agronomique. Enfin, les infections au stade juvénile

sur sable permettent, malgré leur imperfection, de trier ou de contrôler de nombreux lots en un espace et un temps réduits.

Les lignées résistantes obtenues en sélection généalogique ou par croisement présentent un intérêt agronomique dont l'importance sera jugée au cours des prochaines années. Des essais pratiques permettront de savoir si la faible quantité d'inoculum de *Phytophthora infestans* sur le feuillage des plantes résistantes réduit les dégâts sur les fruits de ces mêmes plantes, lorsqu'elles sont cultivées seules en grandes parcelles et non plus en parcelles d'essais, parmi les plantes sensibles apportant massivement un inoculum sur les fruits des plantes résistantes.

Reçu pour publication en avril 1974.

REMERCIEMENTS

Nous remercions très sincèrement MM. MADEC, JOUAN et LENORMAND pour leurs remarques pertinentes apportées au cours de l'élaboration de cet article.

SUMMARY

SELECTION FOR THE RESISTANCE

TO *PHYTOPHTHORA INFESTANS* MONT., DE BARY IN TOMATO

Owing the fact that *Ph* gene is ineffective against the french isolates of *Phytophthora infestans*, the multigenic resistance of the line « WVa'63 » from *Lycopersicon pimpinellifolium* was studied. The « WVa'63 » resistance is moderate but effective against the isolates which are pathogenic over the lines with only the *Ph* gene. Yet some isolates are very aggressive over « WVa'63 » in artificial infection.

With the described methods, it is possible to realize the selection as with a semi-dominant monogenic character, nevertheless is necessary to choice the more resistant plants in the successive tests. The severe selection in F_2 populations give generally plants of which the lineage is homogeneous for the resistance against *Phytophthora infestans*.

Three methods of selection by artificial inoculation are described, every one is interesting at different steps of a selection program.

A line of « Saint Pierre » type, resistant to *Verticillium dahliae* and *Phytophthora infestans* was obtained after backcrosses from « WVa'63 ». This line was registered in 1973 under the name « Piéraline », the commercial multiplication begins in 1974. Other resistant lines were obtained in various types. The experimentation of such lines will permit to know the real interest of this resistance linked with a reduction of the fungicide treatments.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- CENTRE TECHNIQUE INTERPROFESSIONNEL DES FRUITS, LÉGUMES ET CHAMPIGNONS (C. T. I. F. L.), 1967. *La Tomate*. Dossier économique, C. T. I. F. L., Paris, 130 p.
- GALLEGLY M. E., 1960. Resistance to the late blight fungus in tomato. *Proc. Campbell Soup Co., Plant Seminar*, U. S. A., 113-135.
- GALLEGLY M. E., 1968. Genetics of pathogenicity of *Phytophthora infestans*. *Annu. Rev. Phytopathol.* U. S. A., 6, 375-396.
- GOODMAN O., 1957. Breeding tomatoes to resist blight. *Grower*, 47, 179-183 (in *Hortic. Abstr.*, 27, 241).

- GÜNTHER E., EGGERT D., GRÜMMER G., 1970. Resistance of tomatoes to late blight. *Ann. appl. Biol.*, **65**, 255-262.
- KEDAR N., ROTEM J., WAHL I., 1959. Physiologic specialization of *Phytophthora infestans* in Israël. *Phytopathology*, **49** (10), 675-679.
- MADEC P., PERENNEC P., LAISSUS R., 1956. Travaux effectués pendant la période 1945-1955, Laboratoire de Recherches sur la Pomme de terre, Landerneau. *Ann. Amélior. Plantes*, **6** (3), 319-382.
- MESSIAEN C. M., COLBRANT P., FOURCADE P., CHRESTIAN P., LEROUX J.-P., 1968. Epidemiology and forecasting of early and late blight of tomato in Southeastern France. *First International Congress of Plant Pathology*, 14-26 July, London, 129.
- SCHILTZ P., IZARD C., 1962. Susceptibilité cotylédonaire et résistance à *Peronospora tabacina* ADAM. *C. R. Acad. Agric.*, **48** (11), 561-564.
- SCHILTZ P., COUSSIRAT J.-C., 1969. Mise en évidence de la résistance des Nicotianae aux « Lignées virulentes » de *Phytophthora tabacina* et détermination du pouvoir pathogène du parasite. *Ann. SEITA, DEE* sect., **2** (6), 145-161.
- SHIRKO V. N., GLUSHCHENKO E. J., 1971. Resistance to *Phytophthora* of F₁ hybrid tomatoes (en russe, résumé anglais). *Tr. prikl. Bot. Genet. Sel.*, S. S. S. R., **43** (3), 168-171.
-

AMÉLIORATION GÉNÉTIQUE DE LA VIGNE

R. WAGNER

*Station de Recherches viticoles et œnologiques,
Centre de Recherches de Colmar, I. N. R. A.,
B.P. 384, 68021 Colmar*

RÉSUMÉ

Après un rappel sommaire de la systématique du genre *Vitis*, on décrit quelques acquisitions récentes concernant les méthodes d'amélioration génétique applicables à la Vigne.

Des indications générales sur les objectifs de sélection et le choix des géniteurs précèdent une analyse des apports de différentes branches de la biologie à l'amélioration de la Vigne.

L'article se termine par un bilan des résultats obtenus ces dernières années dans ce domaine en France.

La viticulture représente une branche importante de la production agricole (8 p. 100 en valeur environ).

Son intérêt pour l'économie nationale réside également dans la part que prennent vins et cognacs dans les exportations actuellement plus indispensables que jamais.

La consolidation des positions acquises et la recherche de nouveaux marchés impliquent l'amélioration constante de la qualité au moindre coût, la pondération entre ces deux aspects du problème dépend évidemment de la notoriété des différentes catégories de vins selon les régions, les appellations et les crus.

Dans ce contexte le facteur variétal a une importance primordiale. C'est pourquoi la viticulture attend de l'amélioration génétique de la Vigne qu'elle lui fournisse les nouvelles obtentions susceptibles de s'adapter, mieux que l'encépagement traditionnel, aux diverses exigences qui se font jour.

Pour décrire succinctement quelques acquisitions récentes dans ce domaine, nous exposerons successivement les points suivants :

- le genre *Vitis*,
- les méthodes d'amélioration génétique applicables à la Vigne,
- les objectifs de sélection,
- le choix des géniteurs,
- les apports de différentes disciplines à l'amélioration de la Vigne,
- les résultats obtenus.

I. — LE GENRE *VITIS*

Une connaissance approfondie du matériel végétal est indispensable pour mener à bien des programmes d'amélioration variétale. Nous nous contenterons, à cet effet, de présenter uniquement le genre *Vitis* au sein de la famille des Vitacées car, jusqu'à présent, aucun hybride intergénétique n'a pu être obtenu, quoique de nombreuses tentatives aient été faites (NEGRUL, 1968).

On divise le genre *Vitis* en deux groupes d'espèces (PLANCHON, 1887) :

— la section *Muscadinia* : ce sont des vignes ayant $2n = 40$ chromosomes. Il n'y a que trois espèces de *Vitis* appartenant à ce groupe dont *Vitis rotundifolia*.

— la section *Euvites* englobe les vignes à $2n = 38$ chromosomes. C'est le groupe le plus important à la fois botaniquement, 55 espèces d'après GALET (1967), et économiquement. Toutes les *Euvites* peuvent se croiser entre elles et donnent des plantes fertiles. Dans le cas présent, la notion d'espèce est donc beaucoup moins restrictive qu'en arboriculture et en céréaliculture (LEVADOUX, BOUBALS et RIVES, 1962).

La stérilité des hybrides issus de croisement impliquant des espèces n'appartenant pas à la même section, est due principalement à un manque d'homologie des chromosomes (PATEL et OLMO, 1955) : schématiquement les 2 groupes d'espèces n'auraient en commun que 13 paires de chromosomes « partiellement homologues ou bien suffisamment proches pour s'unir » (OLMO, 1954). On trouvera dans le tableau I les associations méiotiques observées et l'interprétation génétique proposée dans le cas d'un croisement entre *Vitis vinifera* et *Vitis rotundifolia*.

TABLEAU I

Homologie entre *Euvites* (*Vitis vinifera*) et *Muscadinia* (*Vitis rotundifolia*)
(PATEL et OLMO, 1955)

Matériel étudié	Associations méiotiques observées en MI	Interprétation proposée
<i>Vitis vinifera</i>	19 II	13 R ^p R ^p + 6 AA
<i>Vitis rotundifolia</i>	20 II	13 R ^r R ^r + 7 BB
F ₁ :		
<i>Vitis vinifera</i> × <i>Vitis rotundifolia</i>	13 II + 13 I	13 R ^r R ^p + 6 A + 7 B

La classification des différentes espèces composant la section *Euvites* a fait l'objet de nombreuses controverses qui s'expliquent par le désaccord des auteurs quant à la hiérarchie des caractères distinctifs (RIVES, 1971). On pourrait penser arriver à une solution assez satisfaisante à ce problème par le recours à la taxonomie numérique (SOKAL et SNEATH, 1963) qui se propose de mesurer objectivement, sur un grand nombre de caractères ayant chacun le même poids, les similitudes existant entre espèces, afin d'aboutir à une bonne répétabilité des graphes (dendro-

TABLEAU 2

Classification des Euvites d'après GALET (1967) et LEVADOUX (1968).
 Comparaison avec les résultats obtenus par la taxinomie numérique
 (BARRET *et al.*, 1969)

Classification de GALET	Classification de LEVADOUX (elle ne concerne que les « Vignes américaines »)
Série 1 : <i>Candicansoideae</i> <i>V. Doaniana</i> <i>V. longii</i> <i>V. candicans</i> <i>V. champinii</i>	Série IV : <i>Serrenses</i> <i>V. monticola</i> <i>V. Champinii</i>
Série 2 : <i>Labruscae</i> <i>V. labrusca</i>	Série I : <i>Labruscoideae</i> <i>V. candicans</i> <i>V. Labrusca</i> <i>V. tiliaefolia</i> (= <i>V. caribaea</i>)
Série 3 : <i>Caribaeae</i> <i>V. caribaea</i> (= <i>V. tiliaefolia</i>)	Série V : <i>Amnicolae</i> <i>V. cinerea</i> <i>V. Berlandieri</i> <i>V. Baileyana</i> <i>V. cordifolia</i> <i>V. palmata</i> (= <i>V. rubra</i>) <i>V. rupestris</i>
Série 5 : <i>Cinereae</i> <i>V. cinerea</i> <i>V. Berlandieri</i> <i>V. Baileyana</i>	Série IV : <i>Serrenses</i> <i>V. riaparia</i>
Série 7 : <i>Cordifoliae</i> <i>V. cordifolia</i> <i>V. rubra</i> (= <i>V. palmata</i>) <i>V. monticola</i>	Série II : <i>Floridanae</i>
Série 4 : <i>Arizonae</i>	Série III : <i>Aestivalis</i> <i>V. aestivalis</i> <i>V. Linccumii</i> <i>V. bicolor</i>
Série 6 : <i>Aestivalis</i> <i>V. aestivalis</i> <i>V. Linccumii</i> <i>V. bicolor</i> <i>V. Bourquina</i>	Groupe VI : Formes hybrides <i>V. Doaniana</i> <i>V. longii</i>
Série 8 : <i>Flexuosae</i> <i>V. amurensis</i>	
Série 9 : <i>Spinosa</i>	
Série 10 : <i>Ripariae</i> <i>V. riparia</i> <i>V. rupestris</i>	
Série 11 : <i>Vinifera</i> <i>V. vinifera</i>	

Seules les parties structurellement identiques des trois dendrogrammes de BARRET *et al.*, ont été représentées ici à la droite des classifications de GALET et LEVADOUX. Plus les segments horizontaux d'un dendrogramme qui relient deux espèces sont courts, plus celles-ci présentent des caractères communs.

—————> Ce symbole indique une espèce ne présentant que peu de caractères communs avec les autres espèces considérées.

grammes) résumant l'ensemble de l'information ainsi recueillie et traitée. Mais les travaux de BARRETT, CARMER et RHODES (1969) qui ont porté sur 21 espèces de *Vitis*, représentées chacune par plusieurs clones, donnent des résultats sensiblement différents selon les indices de similarité (BENZECRI *et al.*, 1973) utilisés : r , D ou d , c'est-à-dire respectivement les coefficients de corrélation, de divergence de CLARK (1952) et de distance de SOKAL (1961). Les 3 dendrogrammes correspondants présentent toutefois un certain nombre de parties structurellement identiques qui, seules, ont été conservées dans le tableau 2 pour effectuer la comparaison avec les classifications proposées par GALET (1967) et LEVADOUX (1968). Quelques divergences apparaissent concernant notamment *Vitis monticola* et *Vitis caribea*, par contre le regroupement opéré au sein de la série des *Aestivalis* est identique.

Il est certain qu'une étude se basant sur les méthodes d'analyse factorielle actuellement disponibles portant sur l'ensemble des espèces du genre *Vitis* et englobant non seulement des caractères morphologiques mais aussi les particularités biochimiques de ces plantes (KLIEWER, 1966), apporterait encore à nos connaissances dans ce domaine une contribution importante.

II. — MÉTHODES D'AMÉLIORATION

I. — Généralités

Par rapport à d'autres plantes cultivées, la Vigne présente un certain nombre d'avantages pour le sélectionneur : elle est diploïde, on peut généralement obtenir des descendance issues d'autofécondations, elle présente des disjonctions pour le type sexuel (mâle, hermaphrodite, femelle), le croisement entre espèces au sein de la section *Euvites* est possible et donne des hybrides fertiles ; enfin, tout génotype est immédiatement utilisable par la viticulture puisque la multiplication végétative est le seul moyen de propagation des variétés cultivées.

La difficulté majeure à laquelle on se heurte dans les programmes d'amélioration variétale est le temps que demande l'étude complète d'une obtention, car la longévité moyenne d'une vigne est de 20 à 30 ans. S'il n'est pas imaginable d'attendre aussi longtemps, une durée minimum de 7 ans (soit 3 récoltes) est cependant nécessaire à cet effet. Cela exige déjà de pouvoir disposer de superficies importantes, car les densités de plantation ne peuvent guère dépasser 5 à 10 000 pieds à l'hectare.

Des aspects réglementaires interviennent aussi. Ils ne peuvent pas être ignorés, surtout lorsqu'on s'intéresse à des zones bénéficiant d'appellations contrôlées. L'encépagement, au même titre que d'autres facteurs conditionnant la typicité d'un vin doit répondre, notamment en France, à des usages « locaux, loyaux et constants ». Une évolution prudente de l'encépagement est toutefois souhaitable à condition que le niveau qualitatif du vin et son originalité soient respectés.

2. — La sélection conservatrice

S'assurer de pouvoir maintenir la qualité sanitaire du matériel disponible est un préalable avant d'entreprendre un programme de sélection. Grâce aux connaissances acquises dans le domaine des viroses de la Vigne (BERCKS, 1967 ; BOUBALS,

1966 ; LEGIN, 1972 ; HEWITT *et al.*, 1958 ; VUITTENEZ, 1960, 1964, 1966, 1970, 1972) on peut admettre que ce problème est actuellement résolu de façon relativement satisfaisante.

On peut également parler d'amélioration conservatrice dans le cas des travaux de *sélection clonale* entrepris à l'intérieur d'un cépage qui, selon la définition de RIVES (1961) n'est qu'un ensemble d'« individus qui sont cultivés et utilisés technologiquement sous un nom collectif par des viticulteurs ». On attribue la variabilité que l'on y trouve, d'une part, à une « origine polyclonale des cépages » et, d'autre part, à des « irrégularités de la réplication génétique » au niveau de cellules méristématiques (RIVES, 1971).

3. — *Amélioration variétale par voie végétative*

Il s'agit aussi d'une sélection clonale, mais on recherche dans ce cas les plantes présentant des mutations induites qui peuvent éventuellement donner des clones différents de ceux qui sont issus de la prospection au vignoble.

Avec PETIT et PREVOST (1968) nous distinguerons les mutations « qui affectent la structure d'un gène », de celles qui « modifient la structure ou le nombre de chromosomes ».

3. 1. *Utilisation de mutations géniques.*

Au sein des espèces de *Vitis* les mutations géniques germinales sont difficilement observables car on dispose d'assez peu de plants de semis en production, alors qu'il en faudrait un grand nombre pour pouvoir espérer déceler des mutants ; en outre, le matériel disponible présente, en général, des disjonctions pour les quelques caractères à hérédité simple qui pourraient être employés pour de telles observations.

Les mutations somatiques sont, au contraire, facilement décelables et très variées (SHARMA et MUKHERJEE, 1972), celles portant sur la grappe ont fait l'objet d'un grand nombre de communications concernant notamment la couleur des baies (LEVADOUX, 1946 ; MULLER et STOLL, 1950), l'absence de pépins (SNYDER et HARMON, 1936), etc. On provoque leur apparition plus facilement par l'emploi de substances chimiques mutagènes comme le méthane sulfonate d'éthyle que par les rayons X (BOUBALS, 1953) mais, jusqu'à présent, ces techniques n'ont pas abouti à la création de nouvelles variétés économiquement intéressantes.

Dans la généralité des cas, une mutation somatique conduit à la formation d'une chimère qui ne pourra être stable que si la cellule mutée ou sa descendance végétative participe activement à la formation des méristèmes qui se différencient au sein des deux strates LI et LII composant l'apex de la Vigne (THOMPSON et OLMO, 1963). Au cas où l'une des deux couches seulement est entièrement envahie par les cellules mutées, on obtient une structure en chimère péricleine : c'est probablement le cas du « Pinot gris », une variété à baies grises, dont la descendance par voie sexuée ne présente aucun raisin gris.

On observe également des chimères à la suite de mutations somatiques chromosomiques. Chez la Vigne, les travaux ont porté essentiellement sur la tétraploidie.

3. 2. Variétés polyplœides.

D'après STAUDT (1973) ces variétés présentent souvent un épiderme (LI) diploïde et une LII tétraploïde, bien que l'on trouve également des clones entièrement tétraploïdes (DERMEN, 1954 ; EINSET et PRATT, 1954 ; THOMPSON et OLMO, 1963 ; SAUER et ANTCLIFF, 1969). Le matériel actuellement disponible pour la sélection comprend à la fois des polyplœides spontanés trouvés après une recherche systématique au vignoble (OLMO, 1942, 1952 ; Ernst WAGNER, 1956 ; RIVES et POUGET, 1959 ; BALTHAZARD et BERTRAN de BALANDA, 1972) et des variétés obtenues après doublement du stock chromosomique à la suite d'un traitement à la colchicine d'extrémités de pousses (OLMO, 1952).

Par rapport à leurs formes diploïdes, les plantes tétraploïdes se différencient généralement par des entrenœuds plus courts, des feuilles plus vertes, plus épaisses et plus grandes ; les baies sont plus volumineuses : la différence entre les deux niveaux de ploïdie s'échelonne entre 21 et 63 p. 100 selon les variétés (Ernst WAGNER, 1958). Cette caractéristique pourrait être utilisée pour l'amélioration des raisins de table si la sensibilité des obtentions tétraploïdes à la « coulure » pouvait être surmontée. Il se produit, en effet, souvent une chute de fleurs trop importante après la floraison, conduisant à des rendements insuffisants. Pour expliquer cet accident chez les vignes tétraploïdes, STAUDT et KASSRAWI (1973) invoquent deux raisons :

— d'une part, la médiocrité du pourcentage de germination du pollen, due à des perturbations au niveau de la méiose et à un déséquilibre physiologique résultant du doublement chromosomique ;

— d'autre part, ces auteurs notent l'éventualité d'un apport non négligeable d'allopollen diploïde ayant pour conséquence la formation d'embryons triploïdes qui, dans la plupart des cas, ne sont pas viables.

Il semble toutefois que cette deuxième raison ne soit pas suffisante dans le cas général pour provoquer la coulure. Sous le climat californien et avec un matériel différent, OLMO (1952) obtient une nouaison comparable à celle des variétés diploïdes en fécondant les clones tétraploïdes par du pollen diploïde.

L'utilisation de telles variétés pour la cuve ou la table repose donc sur un important effort de sélection pour la résistance à la coulure : à Davis (Californie) plus de 3 000 hybrides tétraploïdes, issus du croisement de clones tétraploïdes de « Muscat d'Alexandrie » et de « Thompson Seedless », sont à l'étude (OLMO, 1952). Ce programme de travail qui a débuté en 1936 a abouti à la sélection de deux nouvelles variétés : « Niabell » et « Early Niabell » (THOMPSON et OLMO, 1963).

Pour l'instant, aucune plante haploïde n'a pu être obtenue dans le genre *Vitis*, malgré les efforts dirigés vers ce but : ni la culture d'anthères, ni la polyembryonie considérée comme source naturelle d'haploïdes n'ont débouché sur des résultats satisfaisants.

4. — Amélioration variétale par voie sexuée

C'est la méthode qui a été la plus largement utilisée, elle conduit d'ailleurs encore actuellement aux meilleurs résultats. L'empirisme qui a longtemps prévalu, a conduit à certains succès, là où la tâche était la plus aisée. Pour dépasser ce stade, il faut élaborer des méthodes dont l'efficacité sera conditionnée par l'obtention d'un compromis satisfaisant entre la mise en œuvre de schémas de sélection génétiquement

les plus performants et le respect des contraintes qu'imposent des travaux portant sur une plante ligneuse pérenne. Mais « on ne connaît presque rien sur le contrôle génétique des caractères et la valeur génotypique des géniteurs potentiels » (RIVES, 1973).

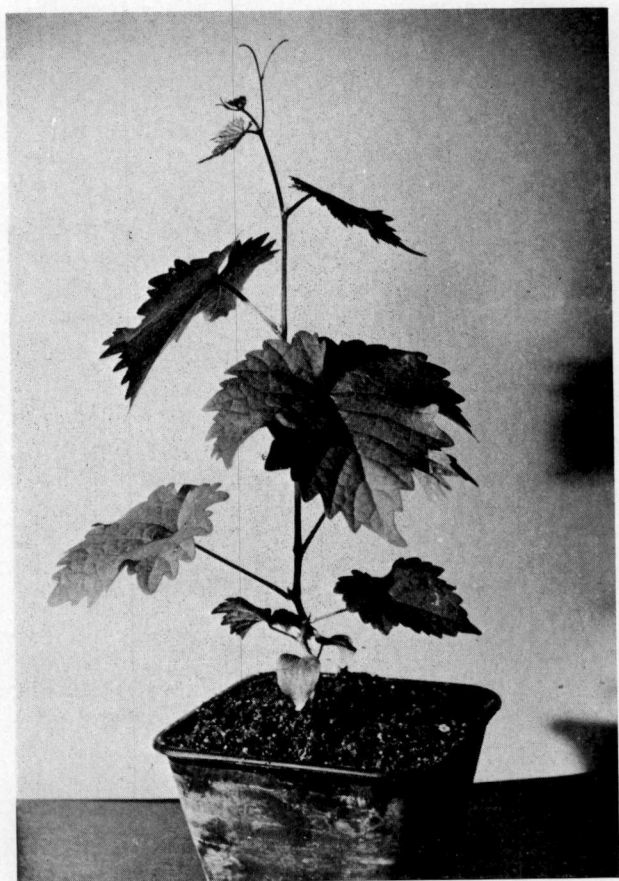


FIG. 1. — *Semis de Vigne âgé de trois mois*

C'est, à la fois, pour recueillir l'information indispensable et pour procéder à un criblage des gènes les plus intéressants que HUGLIN et JULIARD (1964) ont envisagé une technique d'amélioration de la Vigne s'inspirant de celle qui a fait ses preuves chez le Maïs : il s'agit d'abord de connaître et de fixer des caractéristiques variétales importantes. Dans cette première phase, on étudie des descendance issues d'autofécondations successives. Ce qui permet ensuite « l'obtention raisonnée de nouvelles variétés » en recherchant les meilleurs croisements parmi les lignées retenues.

RIVES (1971) remarque que cette méthode exploite essentiellement l'aptitude générale à la combinaison qui s'adapte particulièrement bien à la recherche de géniteurs de résistance. On sait, en effet, que le mode de transmission héréditaire de

la cause de la résistance aux parasites importants de la Vigne est sous la dépendance de systèmes de plusieurs gènes à action additive (BOUBALS, 1959, 1961, 1966) qui sont donc génétiquement fixables par autofécondation.

S'appuyant sur les études de HANSON (1959), RIVES (1968, 1971) recherche « l'hétérogénéité génétique maximale en augmentant le nombre de recombinaisons efficaces qui ne tiennent compte que des échanges par crossing over entre segments provenant de parents différents, parmi ceux qui ont servi de point de départ à l'expérience ». Il prévoit également deux phases : dans la première, il effectue une sélection d'après les résultats obtenus en top-cross et portant sur l'aptitude générale à la combinaison, dans la seconde, il prévoit des croisements diallèles entre les géniteurs retenus afin d'exploiter l'aptitude spécifique à la combinaison.

Cependant, cette stratégie ne semble pas la meilleure, car elle n'augmente pas « à la fois l'efficacité et la fréquence des recombinaisons » (RIVES, 1973). En effet, PANDEY (1972, 1974) a montré que la fréquence des chiasmas varie selon le système de reproduction de la population concernée et il se trouve que le maintien d'un niveau élevé d'hétérozygotie qui augmente l'une des composantes de la variabilité (efficacité des recombinaisons), aurait pour conséquence de réduire l'autre (fréquence des recombinaisons).

L'existence de cette régulation de la variabilité génétique impose donc au sélectionneur un certain louvoisement, quelque soit le mode de reproduction qu'il serait amené à choisir, compte tenu des objectifs de sélection qu'il s'est fixé.

III. — LES OBJECTIFS DE SÉLECTION

A quelques exceptions près (sables du littoral, zones submersibles), il n'existe plus de vignoble franc de pied en France. Il nous faut donc distinguer la sélection des variétés porte-greffes d'une part, de celle des variétés greffons d'autre part.

Maintenant que les connaissances et les techniques de la virologie permettent de travailler sur un matériel présentant des garanties sanitaires suffisantes, les problèmes d'adaptation du porte-greffe au greffon, ou réciproquement, peuvent être étudiés de façon satisfaisante (RIVES, 1971). Mais il n'est pas possible de les retenir comme objectifs de sélection, les différences mises en évidence ne le justifient pas d'ailleurs ; en règle générale, leur prise en compte s'effectuera plutôt, dans chaque région intéressée, une fois qu'une variété aura franchi le cap de l'inscription au Catalogue.

1. — *Sélection de variétés porte-greffes*

Les programmes d'amélioration des porte-greffes comportent un « cahier des charges » particulièrement sévère, car ces variétés doivent satisfaire à la fois trois catégories de producteurs successivement concernés par leur culture.

Chronologiquement, il s'agit d'abord du producteur de sarments de porte-greffes qui entretient des vignes ne produisant que du « bois ». Ses exigences porteront sur la quantité, la qualité et la régularité de la récolte qui dépendent notamment de l'aptitude du feuillage à résister au Mildiou, à l'Oïdium et au Phylloxéra (travaux de BECKER, 1960, 1961).

Ces sarments sont utilisés par le pépiniériste qui désire obtenir une bonne reprise à la fois au greffage et au bouturage — car il faut assurer également la fourniture de « racinés » destinés notamment à l'établissement de nouvelles vignes-mères de porte-greffes.

Le viticulteur demande d'abord au porte-greffe une résistance suffisante surtout au Phylloxéra ou, éventuellement, aux nématodes, selon que l'un ou l'autre de ces parasites est à craindre dans les sols qu'il exploite. Une bonne adaptation aux autres conditions pédo-climatiques est aussi indispensable : selon le cas, ses exigences porteront sur la tolérance au calcaire et à la sécheresse, au sel, etc. Enfin, il lui faudrait pouvoir disposer dans chacune de ces catégories de variétés d'une gamme suffisante de vigueur conférée au greffon, caractéristique qui ne correspond pas forcément à la vigueur du porte-greffe lui-même. Signalons à ce sujet le modèle proposé par RIVES (1971) qui distingue des effets additifs propres au porte-greffe et au greffon d'une part, et d'autre part, des effets non additifs spécifiques à chaque combinaison de porte-greffe et de greffon.

2. — Sélection de variétés greffons

2. 1. *Quelle que soit la destination ultérieure des raisins*, une variété de vigne doit présenter avant tout une régularité de production suffisante à l'égard des aléas climatiques, et, si possible, des attaques de parasites.

Les premiers provoquent la coulure (chute des fleurs), le millerandage (arrêt de la croissance des baies) ou une mauvaise maturité des fruits. On recherchera donc des variétés rustiques dans une gamme de précocité qui permettra l'adaptation aux conditions locales.

Parmi les secondes et en dehors des viroses, il faut craindre des insectes comme les vers de la grappe, des acarïens et quelques maladies cryptogamiques depuis longtemps redoutées comme le Mildiou et l'Oïdium, mais aussi l'Excoriose et surtout la Pourriture grise dont les ravages se font durement ressentir actuellement.

Bien que les traitements antiparasitaires arrivent en général à bien contrôler la pullulation des populations à l'origine des dégâts, il est évident que la mise à la disposition de la viticulture de variétés présentant des résistances même partielles aurait un intérêt économique certain, à condition toutefois que celles-ci ne nuisent pas à la qualité des produits de la Vigne.

Jusqu'à présent, il n'a pas été possible de vraiment concilier ces deux objectifs : on connaît la mauvaise réputation des « hybrides » issus de croisements interspécifiques entre *Vitis vinifera* et plusieurs espèces de *Vitis* d'origine américaine. Nous verrons, dans un autre chapitre, qu'il y a tout de même des raisons d'espérer que le défi puisse un jour être relevé.

2. 2. *Selon la destination des raisins, on demandera, outre les exigences précédentes, des caractéristiques spécifiques.*

— Pour le raisin de table, ce sera l'aspect général des grappes et des baies, l'aptitude au transport, etc. (BRANAS et TRUEL, 1965 ; JASA *et al.*, 1969 ; HUGLIN, 1973).

— Pour la cuve, le problème se complique car, actuellement, chaque région utilise un ensemble de variétés bien déterminé, destiné à produire des vins assez

différents (fig. 2) et souvent bien typés. Il n'est pas exclu qu'à l'avenir, les meilleures variétés disponibles puissent connaître une diffusion bien plus grande qu'actuellement pour atteindre la majeure partie des pays viticoles, ce qui est déjà le cas des variétés de porte-greffes. Mais cette remarque s'applique certainement mieux aux vignobles bénéficiant de conditions climatiques très favorables, qu'à ceux qui se situent au voisinage de la limite nord de culture de la Vigne. Pour ces derniers, qui supportent des charges très lourdes, il n'est possible de subsister qu'en continuant à produire des vins dont l'originalité et la qualité reposent, peut-être plus qu'ailleurs, sur les caractéristiques propres de l'encépagement régional. En outre, la rigueur du climat impose également une grande prudence dans l'utilisation de variétés sélectionnées dans des milieux plus cléments. Pour les vignobles ayant des traditions très anciennes se rapportant aussi bien à l'encépagement qu'aux principes de vinification, il en résulte un état de fait s'apparentant à un certain isolement : si le travail de sélection effectué dans d'autres pays peut leur apporter, par exemple,

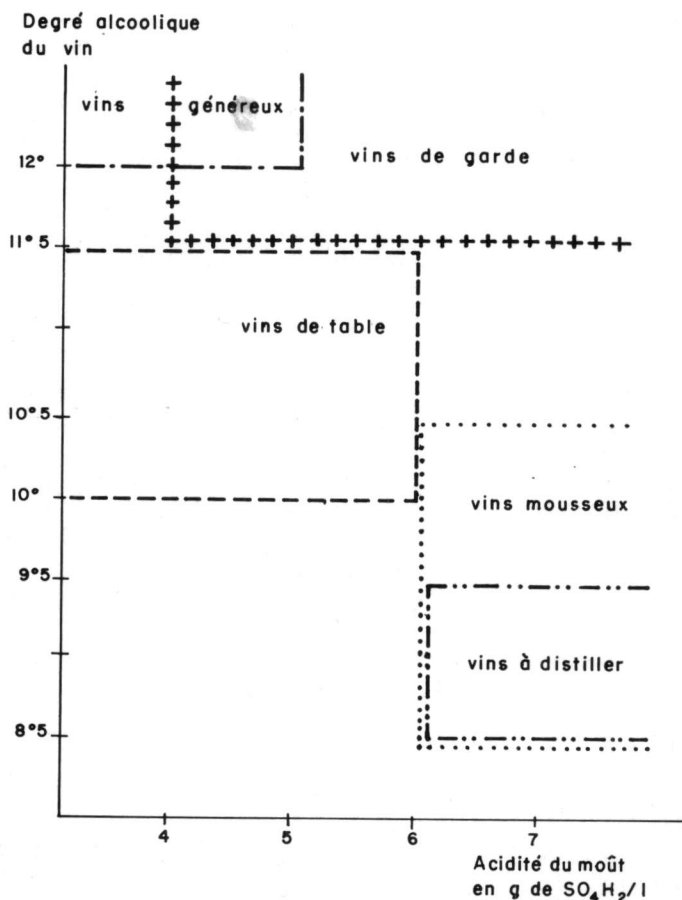


FIG. 2. — Classification des différentes catégories de cépages, d'après l'usage que l'on peut faire de leur vin
(cépages du premier groupe de maturité, vinifiés en blanc)
Schéma établi d'après des données de BRANAS et TRUEL (1969)

des porte-greffes intéressants, la probabilité d'obtenir par cette voie des variétés de cuve adaptées à de telles exigences climatiques, technologiques et gustatives est très réduite.

Le cas des vins de consommation courante doit aussi être considéré indépendamment. Il s'agit très schématiquement de trouver des variétés à hauts rendements avec des taux de sucres satisfaisants, plus précoces que l'encépagement traditionnel, possédant des caractéristiques organoleptiques agréables et, pour les cépages rouges, une bonne intensité de coloration (HUGLIN, 1972, 1973).

IV. — LE CHOIX DES GÉNITEURS

Une remarque préalable concerne l'éventualité d'une transmission par le semis de viroses dommageables pour la Vigne. Sur des plantes malades, HEWITT et CORY (1968) ont trouvé le virus du Fanleaf (Courtnoué) dans le pollen et dans les tissus maternels des graines, mais pas dans les embryons. Malgré ce résultat négatif, il est prudent de ne retenir comme géniteurs que des ceps présentant un bon état sanitaire. Cette précaution permet, en outre, de s'assurer une fructification abondante des porte-graines.

Nous avons vu la diversité des objectifs de sélection qui sont à prévoir pour assurer une bonne adaptation des nouvelles variétés de vigne aux différentes régions. Aussi seules quelques indications d'ordre général peuvent être données quant au choix de géniteurs pour l'exécution d'un programme d'amélioration variétale.

La possibilité d'une sélection dans un matériel végétal donné étant conditionné par l'existence d'une variation de nature génétique, il paraît logique, *a priori*, de prendre comme matériel de départ une base génétique la plus large possible. D'où l'intérêt de prospections systématiques dans l'aire d'extension des différentes espèces du genre *Vitis* (RIVES, 1963), afin de disposer d'un inventaire assez complet des potentialités existantes.

Cependant, plus les géniteurs choisis s'écartent de l'encépagement autochtone, plus la probabilité d'obtenir, dans la descendance, des plantes répondant aux différentes exigences qu'on se fixe seront faibles, il faudra alors avoir recours à des effectifs corrélativement beaucoup plus élevés pour espérer quelques chances de réussite, ce qui n'est pas facilement réalisable chez la Vigne.

Nous examinerons ci-dessous les différents niveaux de variabilité génétique qui peuvent être mis en œuvre, en nous limitant au cas de la sélection de variétés-greffons.

Le premier niveau de variation exploitable se situe au niveau du cépage. HUGLIN et JULLIARD (1962) emploient à ce sujet le terme de « cépage population » pour insister sur l'hétérogénéité génétique qui est ainsi disponible. Elle est à l'origine des succès remportés par la sélection clonale, mais il est généralement admis que les autofécondations ou les croisements à l'intérieur de ces unités ne conduisent pas à des résultats satisfaisants (NEGRUL, 1968). Effectivement, la faible vigueur, les rendements généralement médiocres et très fluctuants d'une année à l'autre, font que ces obtentions manifestement trop consanguins, ne peuvent pas prétendre prendre pied dans le vignoble. Cependant une nouvelle variété allemande, le « Rabaner », est donnée

pour être l'un des descendants d'un croisement entre 2 clones de « Riesling » (BECKER *et al.*, 1970).

Au sein de chacun des trois groupes écologico-géographiques qui ont été définis dans *Vitis vinifera* par NEGRUL (1946), on peut effectuer une amélioration variétale efficace car les descendance de ces croisements présentent un effet d'hétérosis très net, suffisant dans la plupart des cas pour assurer le niveau de vigueur qui permet d'atteindre une bonne productivité. Il faut souligner ici qu'une croissance trop exubérante serait généralement plus néfaste qu'utile, car elle impliquerait des difficultés de palissage, des risques de coulure, etc. Notons, à titre d'exemple, que 9 nouvelles variétés allemandes ont pour origine des croisements entre le « Riesling » et le « Sylvaner » ou sont issues de back-cross avec l'un ou l'autre de ces deux cépages.

Les croisements entre variétés appartenant à des groupes différents conduisent à d'importantes modifications par rapport aux formes de départ. NEGRUL (1968) indique à ce sujet quelques règles très générales concernant les résultats obtenus selon l'origine du matériel de départ.

Pour trouver des variétés résistantes aux principaux parasites de la Vigne, il faut recourir à des hybridations interspécifiques qui, dans le passé, ont présenté l'inconvénient de compromettre la qualité des vins élaborés à partir de clones issus de telles descendance. Des travaux plus récents ont montré que cet obstacle n'est pas insurmontable.

V. — LES APPORTS DE DIFFÉRENTES DISCIPLINES

A L'AMÉLIORATION DE LA VIGNE

Les recherches effectuées dans plusieurs disciplines en collaboration avec l'amélioration variétale lui apportent une importante contribution. Nous avons essayé de résumer ci-dessous les résultats les plus récents qui ont été signalés dans ces différents secteurs, ce rapide inventaire servira aussi à donner une idée des tendances vers lesquelles s'orientent les techniques de sélection de la Vigne.

1. — Travaux portant sur la cytogénétique

Ils sont le fait d'équipes qui étudient les variétés tétraploïdes (STAUDT et KASSRAWI, 1972) et les croisements entre tétraploïdes et diploïdes (WOLF, 1970). Il semble cependant que les résultats les plus prometteurs pour la viticulture dans le domaine de la cytogénétique soient ceux qui ont été menés par DUNSTAN (1964), JELENKOVIC et OLMO (1969), PATEL et OLMO (1955) concernant l'introggression entre *Euvites* à $2n = 38$ chromosomes et *Muscadinia* à $2n = 40$ chromosomes, grâce à l'obtention de quelques descendants fertiles au sein d'un croisement entre *Vitis vinifera* et *Vitis rotundifolia*. La faible homologie des génomes de ces deux espèces devrait permettre « l'introduction dans un génome d'*Euvites* de fragments du génome de *Vitis rotundifolia*, avec les facteurs favorables, mais sans les caractères indésirables » (RIVES, 1971). Pour la première fois, il apparaît possible de concilier la résistance aux principales maladies cryptogamiques et l'absence de saveurs désagréables (OLMO, 1971).

2. — *Études génétiques*

Elles sont difficiles à mener dans le cas de la Vigne, car elles exigent des surfaces importantes qui sont condamnées à rester économiquement improductives pendant de nombreuses années. Il en résulte que nos connaissances dans ce domaine sont très restreintes.

On a pu mettre en évidence l'intervention d'un nombre assez réduit de gènes majeurs pour la transmission héréditaire des caractères suivants :

— Type sexuel (VALLEAU, 1916 ; NEGRUL, 1936 ; BARRETT, 1965 ; NEGI et OLMO, 1966, 1970 ; AVRAMOV *et al.*, 1967 ; DOAZAN et RIVES, 1967 ; WAGNER, 1967) ;

— Coloration des baies (DE LATIN, 1954 ; DURQUETY et DESTANDAU, 1967 ; WAGNER, 1967 ; LAZIC, 1973) ;

— Présence de diglucosides dans les baies (DURQUETY, 1958 ; BOUBALS, CORDONNIER et PISTRE, 1962 ; CAPPELLERI, CALO et LIUNI, 1964) ;

— Arôme des raisins (AVRAMOV et JELENKOVIC, 1967 ; TSEKHMISTRENKO et FILINOVA, 1972 ; WAGNER, 1967, 1974) ;

— Résistance à l'excoriose : *Phomopsis viticola* SOCC. (DOAZAN, 1973) et à la maladie de Pierce (MORTENSEN, 1968) dont la cause pourrait être une Rickettsie (HOPKINS et MOLLENHAUER, 1973 ; GOHEEN *et al.*, 1973).

Le plus souvent, les caractéristiques sur lesquelles porte la sélection relèvent de la génétique quantitative, parmi celles qui ont été étudiées de façon assez précise on peut noter les travaux de TSEKHMISTRENKO et FILINOVA (1971) sur l'hérédité de la grosseur des baies, de FANIZZA (1963) sur la précocité de maturation et ceux de BOUBALS (1956, 1959, 1961, 1966) concernant la résistance au Mildiou, à l'Oïdium et au Phylloxéra.

3. — *Physiologie de la Vigne*

Pour mener à bien des travaux d'amélioration variétale, il faut pouvoir s'appuyer sur des études de physiologie. Or, la majorité des recherches se rattachant à cette discipline sont relatives à des vignes issues de la multiplication végétative. De tels résultats sont, certes, utilisables mais ils se situent souvent à l'aval des préoccupations immédiates du sélectionneur.

On exposera les travaux effectués dans ce domaine dans l'ordre chronologique où ils se rangent lors de la réalisation d'un programme d'amélioration variétale.

3. 1. *Exécution de croisements.*

Physiologie du sexe de la Vigne.

Les Vignes sauvages américaines et européennes sont généralement dioïques, mais on peut trouver dans les centres d'origine de ces espèces des plantes hermaphrodites (RIVES, 1971) qui ont une fleur possédant à la fois pistil et étamines.

Chez les variétés mâles, il se produit une interruption assez précoce de la gamétogénèse femelle conduisant à un développement imparfait du gynécée (DOAZAN et CUELLAR, 1970). Les Vignes femelles ont des fleurs complètes, cependant on les reconnaît aisément à leurs étamines qui ont un filet court ou recourbé. Le pollen, souvent peu abondant, est pratiquement incapable de germer.

On n'a jamais observé la formation de fleurs hermaphrodites sur des plantes femelles (RIVES, 1971) ; par contre, certaines variétés mâles portent parfois des baies (LEVADOUX, 1946). En 1966, NEGI et OLMO obtiennent la fructification de plantes mâles appartenant à différentes espèces de *Vitis* en employant des cytokinines. Cette découverte présente un intérêt certain pour l'amélioration des porte-greffes puisque l'autofécondation des variétés mâles est désormais possible.

Castration chimique.

Elle donne de bons résultats chez le Coton, la Tomate et l'Oignon (COHAN, 1966) ; chez la Vigne, IYER et RANDHAVA (1965) utilisent l'hydrazine maléique alors qu'AB-DELAZIZ (1968) préfère employer la benzyladénine et la colchicine. Ces techniques ne paraissent pas être largement utilisées actuellement.

Obtention de la simultanéité de floraison des géniteurs.

La date de la floraison des géniteurs que l'on veut croiser peut présenter d'importants décalages. Classiquement, on accélère l'évolution du plus tardif en agissant sur



FIG. 3. — Souche de vigne dont le débourrement est inhibé mécaniquement par des pinces enserrant les bourgeons situés sur le sarment conservé à la taille. On arrive ainsi à retarder la floraison de plusieurs semaines

le microclimat, par exemple en déployant des films en matière plastique au-dessus des souches, ou en forçant en serre les souches femelles. Ceci n'est plus suffisant lorsque les dates de floraison sont trop éloignées et si on désire récolter un lot important de graines. Dans ce cas, nous provoquons une inhibition mécanique du débourrement du géniteur le plus précoce au moyen de pinces enserrant chacune un bourgeon. On arrive ainsi à retarder d'un mois le débourrement d'une souche (fig. 3). Généralement ce traitement porte sur le géniteur femelle. Afin d'obtenir des fruits mûrs avant les premières gelées, on abrite, dès la floraison, ces souches sous un film en matière plastique (fig. 4). On peut aussi conserver le pollen, mais au-delà de quelques jours les résultats que nous avons obtenus ont été décevants.

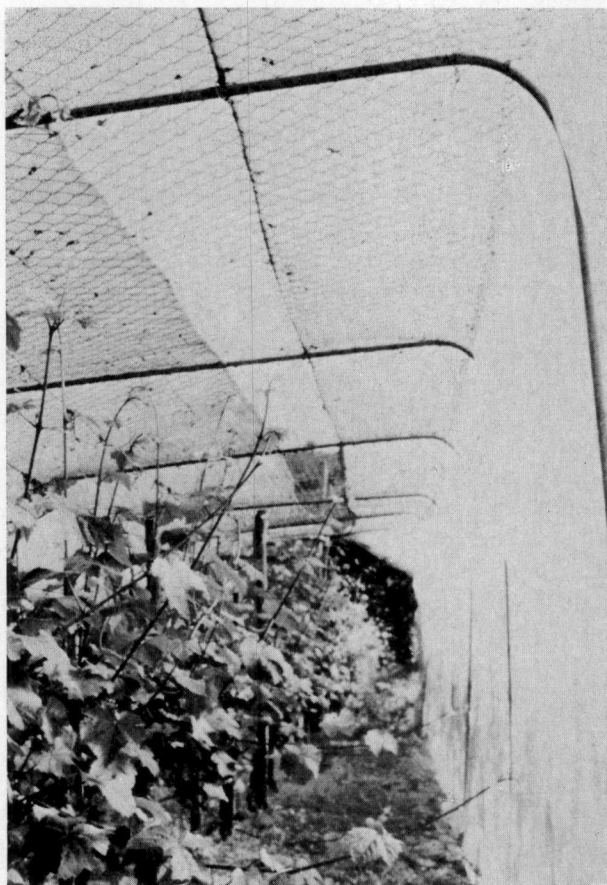


FIG. 4. — Après avoir retardé de plusieurs semaines la floraison d'une rangée de souches au vignoble (voir fig. 3), on arrive malgré tout à obtenir sur ces plantes des graines mûres avant les premières gelées, en les abritant sous un film en matière plastique, mis en place juste avant la réalisation des croisements.

— Parmi les facteurs conditionnant la germination du pollen et la nouaison, les études de KOBLET (1968) ont précisé l'influence de la température et de la pluie à l'époque de la floraison. *In vitro* on obtient une bonne germination du pollen

en le cultivant sur un milieu gélosé contenant du bore (POSPISILOVA, 1963) à une température de 26°C. On constate de grandes différences entre plantes pour ce caractère dans les descendance de *Vitis vinifera* (WAGNER et BRONNER, 1974).

3. 2. *Germination des pépins.*

Nous disposons maintenant de résultats d'une expérimentation très complète sur les meilleures conditions de milieu à réaliser afin de lever efficacement la dormance des pépins (températures voisines de 5°C pendant un mois) et de favoriser une bonne germination de ces graines (températures alternées entre 20° et 30°C), (BALTHAZARD, 1966, 1968, 1969, 1971).

3. 3. *Élevage des plantes de semis et tests précoces de sélection.*

On peut actuellement distinguer deux techniques d'élevage de plants de semis :

1. Dans les stations bénéficiant de conditions climatiques favorables et de superficies importantes consacrées aux travaux de sélection, les plants sont établis au vignoble, après un passage en serre ou en pépinière. sans avoir fait l'objet d'un tri. Seules les plantes les plus mal venues sont éliminées. La mise à fruit n'est constatée qu'après un délai variable, rarement plus court que 6 ans après le semis sous le climat méditerranéen en France (BRANAS, 1960).

2. Dans les régions disposant de superficies moins importantes et de conditions météorologiques moins propices, l'élevage des jeunes plantes en culture hydroponique a permis d'aborder également les problèmes de sélection en obtenant des inflorescences l'année même du semis (HUGLIN et JULLIARD, 1964). Cette technique présente aussi l'avantage d'être un objet d'étude commode pour les recherches sur la nutrition de la Vigne (DELMAS, 1971), elle bénéficie donc immédiatement des résultats acquis dans ce domaine.

Par ailleurs, des études de physiologie ont montré qu'une sélection pouvait être entreprise dès ce stade sur des plantes âgées d'un an seulement : pour l'instant, elle ne concerne que la fertilité, ou nombre moyen d'inflorescences par pousse (WAGNER et BRONNER, 1974), -mais il est possible d'envisager de prolonger d'un an le séjour en serre, afin de pouvoir exercer une pression de sélection beaucoup plus forte, portant notamment sur la résistance à la coulure. La possibilité de tests précoces de sélection pour la résistance aux gelées d'hiver qui intéresse les pays de climat continental, a aussi été étudiée (KONDO, 1963 ; REUTHER et BECKER, 1973 ; EIFFERT, 1973), ainsi que plusieurs qualités recherchées pour l'obtention de porte-greffes : l'aptitude au greffage et au bouturage (JULLIARD, 1973), le type d'enracinement (POUGET, 1972) et l'adaptation aux sols calcaires (POUGET et JUSTE, 1972 ; POUGET et OTTENWAEELTER, 1973). L'appréciation des réactions variétales au milieu pédoclimatique au moyen de tests précoces n'est, certes, pas chose aisée. Mais, l'intérêt de ces techniques justifie que des moyens importants soient consacrés à leur mise au point.

4. — *Études de pathologie et de physiopathologie*

Ici aussi, malgré la difficulté de la tâche, il est nécessaire de posséder une connaissance approfondie des interactions entre la plante hôte et ses parasites, afin d'arriver à définir des tests de résistance aux parasites les plus dommageables à la

Vigne. Il faut bien reconnaître que peu d'études ont été entreprises dans ce domaine du fait des difficultés qu'a rencontrées la sélection pour arriver à des résultats satisfaisants du point de vue de la qualité technologique dans les descendance issues de croisements interspécifiques.

BOUBALS (1966) trouve une résistance au Phylloxéra par « antibiosis » et par « tolérance » selon les termes utilisés par PAINTER (1951).

Pour le Mildiou et l'Oïdium, la cause la plus importante intervient au niveau de la nutrition proprement dite du champignon parasite qui rencontre des conditions plus ou moins favorables lorsqu'il se développe aux dépens de l'hôte (BOUBALS, 1959, 1961).

A l'opposé des parasites déjà cités, la Pourriture grise (*Botrytis cinerea* Fr.) n'est pas inféodée à la Vigne ce qui peut expliquer, en partie au moins, l'efficacité assez moyenne des traitements chimiques auxquels on a recours, faute de pouvoir disposer de variétés résistantes ou, au moins, suffisamment tolérantes (BRANAS, 1974). Parmi les causes de résistance décrites, il y aurait d'abord une inhibition de la germination des spores à la surface de la cuticule et en second lieu une réaction nécrotique de la plante s'accompagnant de la synthèse de substances antibiotiques qui renforcerait l'action de composés phénoliques déjà présents dans l'épiderme (ZOROV et PLISKANOVSKIJ, 1973). Cette étude ne concerne que des espèces américaines, pour *Vitis vinifera* on ne connaît bien que les caractéristiques variétales qui entraînent une forte sensibilité à ce parasite : excès de précocité (régions septentrionales) ou de tardivité (régions méridionales), compacité des grappes, baies sujettes à l'éclatement, etc. (BRANAS, 1974).

Pour clore ce chapitre, nous mentionnerons à nouveau l'intérêt des résultats obtenus par les virologues qui permettent, à présent, de préserver le bon état sanitaire des obtentions au cours de leur multiplication.

5. — *Appréciation des caractéristiques technologiques des obtentions*

S'il est un domaine où l'évolution des techniques est particulièrement rapide, c'est bien celui de la biochimie. On arrive à doser un nombre de plus en plus grand de composés parmi ceux à qui on accorde une importance primordiale, lorsqu'il s'agit de définir les qualités d'un vin.

Cela exige un matériel coûteux dont les performances sont rapidement dépassées par de nouveaux modèles. L'utilisation correcte et l'exploitation de toutes les possibilités de ces équipements requièrent un personnel compétent, occupé à plein temps. Pour toutes ces raisons, seul un laboratoire spécialisé peut prendre en charge la responsabilité de ces travaux, même s'ils ont un caractère répétitif, sauf pour des analyses tout à fait élémentaires.

La collaboration entre la viticulture et l'œnologie est donc particulièrement importante, notamment en ce qui concerne l'amélioration variétale.

Elle se manifeste en premier lieu au niveau des vinifications en petits volumes (2 à 200 litres) qui sont prévues aux différents stades de l'étude au vignoble d'une obtention (1^{er} stade : 1 à 2 souches, 2^e stade : 10 à 20 souches, 3^e stade : 100 souches et plus).

Ces fermentations relèvent d'une technologie qui doit faire l'objet d'adaptations soignées des méthodes traditionnelles (BECKER, 1968 ; RANKINE et POCKOCK, 1971 ;

BECKER et KERRIDGE, 1972), les risques d'oxydation, entre autres, étant particulièrement difficiles à éviter, d'où l'intérêt d'effectuer les « microvinifications » sous atmosphère de gaz inertes (JAULNES, 1967 ; MARTINIÈRE et SAPIS, 1967 ; SCHAEFFER, 1968).

L'appréciation des moûts et des vins par voie d'analyse des constituants chimiques est précieuse pour le sélectionneur, car elle conduit à des résultats objectifs présentant une bonne sensibilité.

Les recherches récentes dans ce domaine concernent essentiellement : l'interprétation chimique de la couleur des vins rouges (SOMERS, 1971 ; RIBEREAU-GAYON, 1973), l'isolement et le dosage de faibles quantités d'anthocyanes (BOURZEIX, 1967 ; FEDUCHY, 1972), l'analyse par chromatographie en phase gazeuse de constituants de l'arôme du raisin (fig. 5) : tout particulièrement des muscats (STEVENS *et al.*, 1966 ; WEBB *et al.*, 1966 ; BAYONOVE et CORDONNIER, 1970, 1971, 1972 ; RIBEREAU-GAYON, 1971 ; TERRIER et BOIDRON, 1972) et de la variété « Cabernet-Sauvignon » (BOIDRON, 1966 ; BOUBALS, CORDONNIER et BAYONOVE, 1971).

À l'exception de ces quelques cas particuliers, on n'a pas pu établir « des relations un peu précises et utilisables » entre la composition du vin et ses caractéristiques sensorielles (RIBEREAU-GAYON, 1973).

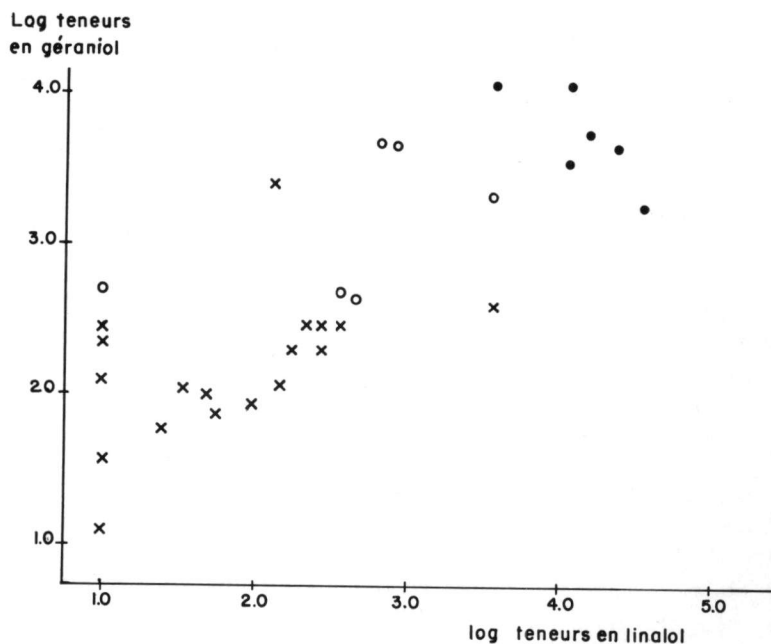


FIG. 5. — Analyse par chromatographie gazeuse de constituants de l'arôme du raisin dans une descendance du croisement « Auxerrois » × « Muscat ottonel ». Il y a des plantes à saveur neutre (croix), aromatique (cercles creux) ou muscat (cercles pleins). On voit que les obtentions à raisins non aromatiques ont, en général, de faibles teneurs en linalol et en géraniol. (WAGNER, DIRNINGER, FUCHS, 1974).

6. — Les apports d'autres disciplines

L'accession des biologistes à des outils de calcul de plus en plus puissants, assure un développement prévisible important de la biométrie ; en effet, il serait aberrant

de ne pas tirer toutes les informations potentielles d'une expérimentation fort exigeante en main-d'œuvre.

En dehors de l'emploi journalier d'interprétations se basant sur l'analyse de la variance (RIVES, 1966), il faut souligner l'intérêt que présente pour la Vigne l'utilisation de l'analyse multivariate (MILLIER et TOMASSONE, 1968) notamment pour les études ampélographiques (WAGNER, 1965 ; RIVES, 1971). Par ailleurs, les méthodes non paramétriques permettent d'assurer une exploitation valable des notations résultant de la dégustation d'échantillons de vins (RIVES, 1972 ; DACU-NHA-CASTELLE, 1974).

Dans la qualité d'un vin, l'influence du milieu joue un rôle important et il faut reconnaître que peu d'études sont disponibles qui permettent d'effectuer des prévisions valables quant à l'adaptation de telle nouvelle variété à telle région, compte tenu des caractéristiques de l'une et de l'autre. Il est prévu d'aborder ce problème dans le cadre d'un essai international groupant actuellement une trentaine de stations de recherches de la plupart des pays viticoles du globe (HUGLIN, 1971). Il s'agit de faire une synthèse à ce niveau des données de la bioclimatologie, de la pédologie et des résultats qui devront être observés sur plusieurs années pour quelques variétés représentatives de différents groupes de précocité.

VI. — RÉSULTATS OBTENUS

En viticulture, les techniques traditionnelles bénéficient d'une certaine faveur et ce n'est que sous la pression des exigences de notre époque qu'elles subissent une évolution rapide.

Cette inertie au changement se constate de façon particulièrement nette dans l'encépagement des zones d'appellation contrôlée : seules de très rares variétés (ex. : « Muscat Ottonel », « Muller Thurgau » cultivés en Alsace) proviennent de croisements intraspécifiques. Elles représentent, par contre, la moitié des cépages de table les plus cultivés, pratiquement toutes les variétés de porte-greffes et l'ensemble des « hybrides producteurs » qui ont vu le jour à la suite de l'invasion phylloxérique.

Les résultats obtenus jusqu'à présent par l'amélioration variétale peuvent être jugés assez satisfaisants en ce qui concerne les porte-greffes et les raisins de table. Ils ont été assez médiocres, en général, pour l'encépagement de cuve et notamment pour les « hybrides producteurs », si bien que la législation de plusieurs pays, y compris la France, interdit la plantation de ces derniers dans les aires produisant des vins de qualité (AOC).

Finalement, la place qu'occupent les variétés provenant de semis reste encore très modeste. Cette situation est certainement appelée à changer, car un très gros effort de sélection a été entrepris durant les vingt dernières années (NEAGU, 1968). Il a essentiellement concerné des instituts de recherches publics car, jusqu'à une date récente, la protection juridique des obtentions était inexistante pour le secteur privé.

Les travaux entrepris à l'Institut national de la Recherche agronomique (I. N. R. A.) ont été exposés par HUGLIN (1973) : ils sont assez avancés à Mont-

pellier où 20 variétés de cuve sont en cours d'inscription au Catalogue. L'utilisation de ce matériel devrait permettre au vignoble méridional de produire, avec des rendements suffisamment élevés, un vin de qualité correcte. Huit variétés de table pourront bientôt être multipliées ; parmi elles, on remarque tout particulièrement le « Perlaut blanc » plus précoce que le « Chasselas », l'« Arдона » qui serait supérieur au « Cardinal » et le « Ribol » qui se garde sur souche et qui résiste au transport (BRANAS et TRUEL, 1973).

La Station de Bordeaux étudie plus particulièrement des variétés apyrènes. Elle dispose aussi de porte-greffes présentant une meilleure résistance au calcaire que le *41 B*, tout en ayant une bonne reprise au greffage, l'un d'eux : le « Fercal » est actuellement présenté à l'homologation.

Parmi les programmes de sélection de variétés de cuve entrepris plus récemment citons, également à Bordeaux, l'obtention de vignes à raisins rouges pour la zone viticole européenne C et, à Colmar, la recherche de cépages aromatiques, précoces et rustiques, pour des régions plus septentrionales.

Ces travaux demandent encore plusieurs années avant d'arriver au stade de l'inscription au Catalogue.

CONCLUSION

Il y a essentiellement deux contraintes qui constituent un sérieux handicap pour l'amélioration génétique de la Vigne.

1. On a affaire à une plante pérenne, ligneuse, demandant d'importantes superficies dans des milieux différents et beaucoup de temps pour l'étude des obtentions au vignoble, étape qui doit intervenir, plus ou moins tôt, dans la recherche de nouvelles variétés. Il faut noter cependant que l'intervalle de temps qui s'écoule entre générations a pu être réduit à un ou deux ans, permettant ainsi une progression plus rapide lors des premières phases de la sélection.

2. Les variétés de cuve se jugent après vinification. Cette opération complique singulièrement la tâche du sélectionneur, car il faut pouvoir disposer d'un volume suffisant de récolte pour avoir des résultats fiables. La mise au point de techniques et d'équipements spécialement conçus pour de faibles quantités de vendange, tendent cependant à diminuer peu à peu le nombre de souches nécessaires à ces essais.

Les moyens disponibles restent cependant fort insuffisants pour la tâche à accomplir, accentuant encore la sévérité des choix à faire parmi les objectifs à poursuivre. La fixation des programmes doit également aboutir à un équilibre judicieux entre la somme des qualités souhaitées et l'importance des délais à consentir.

Reçu pour publication en juillet 1974.

SUMMARY

GENETIC BREEDING IN VINE

After a brief recall of the classification of the *Vitis* genus, there is a description of some recent attainments regarding the methods of genetic breeding that can be applied to Vine.

General information on selection objectives and choice of parents is followed by an analysis of the contributions of various branches of biology to Vine breeding.

The article ends with an evaluation of the results obtained in France in this field in recent years.

REMERCIEMENTS

Je remercie MM. DOUSSINAULT, HUGLIN, POUGET et RIVES pour leurs remarques et suggestions.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ABDELAZIZ H. M., 1968. The effect of prebloom treatments of some chemicals on the induction of pollen sterility and on fruit set in some grape varieties. *Diss. Abstr.*, Ser. B, **29** (4), 1229-B.
- AVRAMOV L., JELENKOVIC G., 1967. Contribution to the study of inheritance of « Muscat Flavour » in some grape varieties. *Savr. Poljopr.*, **15** (1), 25-30.
- AVRAMOV L. *et al.*, 1967. Inheritance of flower type in some grape varieties (*Vitis vinifera* L.). *Vitis*, **6**, 129-135.
- BALTHAZARD J., 1966. Influence de l'intensité de la dormance sur la température optimale de germination des graines de Vigne. *C. R. Soc. Biol.*, **160** (12), 2268-2270.
- BALTHAZARD J., 1968. Influence de l'eau sur la germination des graines de Vigne. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, Sér. D, **266**, 1266-1268.
- BALTHAZARD J., 1969. Températures alternées, longueur des embryons et pouvoir germinatif des graines de Vigne. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, Sér. D, **269**, 2355-2358.
- BALTHAZARD J., 1971. Dormance apparente et dormance vraie des graines de Vigne. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, Sér. D, **272**, 2773-2776.
- BALTHAZARD J., BERTRAN de BALANDA J. F., 1972. Polyploïdes spontanés trouvés en Alsace lors de la prospection systématique de très vieilles parcelles de « Gewurztraminer » (données non publiées).
- BARRETT H. C., 1965. Genotype of functionally hermaphroditic grape clones. *Fruit Var. Hort. Dig.*, **19**, 9-11.
- BARRETT H. C., CARMER S. G., RHODES A. M., 1969. A taximetric study of interspecific variation in *Vitis*. *Vitis*, **8**, 177-187.
- BAYONOVE C., CORDONNIER R., 1970. Recherches sur l'arôme du Muscat. I. Évolution des constituants volatils au cours de la maturation du « Muscat d'Alexandrie ». *Ann. Technol. agric.*, **19** (2), 79-93.
- BAYONOVE C., CORDONNIER R., 1970. Recherches sur l'arôme du Muscat. II. Profils aromatiques de cépages muscat et non muscat. Importance du linalol chez les mutants. *Ann. Technol. agric.*, **19** (2), 95-105.
- BAYONOVE C., CORDONNIER R., 1971. Recherches sur l'arôme du muscat. III. Étude de la fraction terpénique. *Ann. Technol. agric.*, **20** (4), 347-355.
- BAYONOVE C., 1972. Constituants volatils des fruits, du raisin et du vin. *Ind. aliment. agric.*, **89**, 275-280.
- BECKER H., 1960. Untersuchungen an hochresistenten Unterlagen. *Weinberg und Keller*, **7**, 291-300.
- BECKER H. et SCHRODT W., 1961. Über die Anfälligkeit verschiedener Unterlagenzüchtungen (*Vitis*) für echten und falschen Mehltau in Zusammenhang mit der Wuchsstärke. *Gartenbau-Wiss.*, **26** (8), 67-95.
- BECKER H., 1968. Über die Technik der Weinbereitung im Kleinstgebinde (Mikrovinifikation). *Mitt. Klosterneuburg*, **8**, 421-427.
- BECKER H., SCHUMANN F., HILLEBRAND M., 1970. Über neue Geisenheimer Ertragssorten. *Dtsch. Weinb.*, **27**, 1033-1038.
- BECKER H., KERRIDGE G. H., 1972. Methods of small-scale wine making for research purposes in both hot and cool regions. *J. Aust. Inst. agric. Sci.*, **38** (1), 3-6.
- BENZECCI J. P. *et al.*, 1973. *L'analyse des données. I. La taxinomie*. Dunod, Paris, 59-90.
- BERCKS R., 1967. Vorkommen und Nachweis von Viren in Reben. *Weinb. Keller*, **14** (4), 151-162.
- BOIDRON J. N., 1966. *Essai d'identification des constituants de l'arôme de vins de Vitis vinifera*. Thèse, 3^e cycle, Bordeaux.
- BOUBALS D., 1956. Amélioration de la résistance au Mildiou (*Plasmopara viticola*). Recherche de géniteurs de résistance. *Ann. Amélior. Plantes*, **6** (4), 481-525.

- BOUBALS D., 1959. Contribution à l'étude des causes de résistance des Vitacées au Mildiou de la Vigne (*Plasmopara viticola*) et de leur mode de transmission héréditaire. *Ann. Amélior. Plantes*, **9** (1), 5-233.
- BOUBALS D., 1961. Étude des causes de la résistance des Vitacées à l'Oïdium de la Vigne (*Uncinula necator*) et de leur mode de transmission héréditaire. *Ann. Amélior. Plantes*, **11** (4), 401-500.
- BOUBALS D., CORDONNIER R., PISTRE R., 1962. Étude du mode de transmission héréditaire du caractère « diglucosides anthocyaniques » des baies dans le genre *Vitis*. *Prog. agric. vitic.*, **8**, 187-192.
- BOUBALS D., 1963. L'obtention de mutants chez la Vigne. *Quinzaine Sci. Nucl. Univ. Montpellier*, 39-46.
- BOUBALS D., 1966. Étude de la distribution et des causes de la résistance au *Phylloxera* radicole chez les Vitacées. *Ann. Amélior. Plantes*, **16** (2), 145-184.
- BOUBALS D., PISTRE R., 1966. La maladie à virus de l'Enroulement des feuilles de Vigne dans le sud de la France. *Prog. agric. vitic.*, **5**, 113-120 ; **6**, 140-144.
- BOUBALS D., CORDONNIER R., PISTRE R., 1971. Étude du mode de transmission du goût de « Cabernet ». (Projet de recherches I. N. R. A. Amélioration des Plantes n° 71 113).
- BOURZEIX M., 1967. L'isolement et le dosage des faibles quantités d'anthocyanes diglucosides dans les vins et les jus de raisins. *Ann. Technol. agric.*, **16**, 357-364.
- BRANAS J., 1960. Le laboratoire de Vassal : origine et travaux. (Croisements). *Prog. agric. vitic.*, **4**, 101-107.
- BRANAS J., TRUEL P., 1965. *Variétés de raisins de table*. Éditions nouvelles du Progrès Agricole et Viticole. 3 tomes, 1177p.
- BRANAS J., TRUEL P., 1969. Étude comparée des cépages de cuve et sélection des variétés nouvelles. *Prog. agric. vitic.*, **86** (12), 217-230.
- BRANAS J., TRUEL P., 1973. Nouveaux raisins de table. *Prog. agric. vitic.*, suppl. n° 3.
- BRANAS J., 1974. *Viticulture*, École nationale supérieure agronomique, Montpellier, 788-789.
- CAPPELLERI G., CALO A., LIUNI C. S., 1964. Über die Vererbung des Merkmals Malvidindiglukosid bei den Beerenfarbstoffen des Genus *Vitis*. *Rev. Viticol. Enol.*, **17**, 284-302.
- CLARK P. J., 1952. An extension of the coefficient of divergence for use with multiple characters. *Copeia* (Washington D. C.), **2**, 61-64.
- COHAN S. M., 1966. Chemically induced male sterility in Onion (*Allium cepa*). *HortScience*, **1** (1), 16.
- DACUNHA-CASTELLE D., 1974. Document préparatoire au stage I. N. R. A. de statistique et classification non paramétrique. Université Paris XI, 41 p.
- DE LATIN, 1954. Zur Vererbung der Anthocyanbildung bei *Vitis*. *Proc. IX Int. Congr. Genet. Bellagio* 2.
- DELMAS J., 1971. *Recherches sur la nutrition de la Vigne*, *Vitis vinifera* var. Merlot en agriculture. Thèse Université de Bordeaux, 263 p.
- DOAZAN J. P., RIVES M., 1967. Sur le déterminisme génétique du sexe dans le genre *Vitis*. *Ann. Amélior. Plantes*, **17**, 105-111.
- DOAZAN J. P., CUELLAR V., 1970. Modification artificielle de l'expression du sexe dans le genre *Vitis*. *Ann. Amélior. Plantes*, **20**, 79-86.
- DOAZAN J. P., 1973. Sensibilité de variétés de Vigne (*Vitis vinifera*) à l'Excoriose (*Phomopsis Viticola* socc.). Distribution du caractère dans quelques descendance. *Symposium international sur la sélection de la Vigne*, Geilweilerhof-Siebelingen (R. F. A.) (sous presse).
- DERMEN H., 1954. Colchipoïdy in grapes. *J. Hered.*, **45**, 159-172.
- DROUINEAU G., 1942. Dosage rapide du calcaire actif des sols. *Ann. agron.*, 441-450.
- DUNSTAN R. T., 1964. Hybridation of *Euvites* × *Vitis rotundifolia* : backcrosses of Muscadine. *Proc. Amer. Soc. hort. Sci.*, **84**, 238-242.
- DURQUETY P. M., 1958. La génétique des anthocyanes des raisins. *Anal. Plant. Mat. Vég.*, 3-4, 500-507.
- DURQUETY P. M., DESTANDAU, 1967. Contribution à l'étude génétique de certains facteurs pigmentaires et sexuels chez *Vitis vinifera*. *Prog. agric. vitic.*, **84** (7), 189-193 et (8), 203-210.
- EINSET J., PRATT C., 1954. « Giant » sports of grapes. *Proc. Amer. Soc. hort. Sci.*, **63**, 251-256.
- EIFERT A., 1973. Quelques aspects du test de résistance au froid d'hiver au cours d'expérience modèles en chambres climatiques. *Symposium international sur la sélection de la Vigne*, Geilweilerhof-Siebelingen (R. F. A.) (sous presse).
- FANIZZA G., 1973. The heritability of fruit ripening date in *Vitis vinifera* L. *Vitis*, **12**, 93-96.
- FEDUCHY E., 1972. Les anthocyanes : nature, caractéristiques et dosage. *Bull. O. I. V.*, **45** (495), 423-433.
- GALET P., 1947. La résistance des porte-greffes à la chlorose. *Prog. Agric. Vitic.*, **64**, 128-133.
- GALET P., 1967. *Recherches sur les méthodes d'identification et de classification des Vitacées des zones tempérées*. Thèse de doctorat ès Sciences, Montpellier, 526p.
- GOHEEN A. C., NYLAND G., LOWE S. K., 1973. Association of a Rickettsialike organism with Pierce' disease of Grapevines and Alfalfa Dwarf and heat therapy of the disease in Grapevines. *Phytopathology*, **63**, 341-345.
- HANSON W. D., 1959. The breakup of initial linkage blocks under selected mating systems. *Genetics*, **44**, 857-868.

- HEWITT W. *et al.*, 1958. Transmission of Fanleaf-virus by *Xyphinema* Index. *Phytopathology*, **48**, 393.
- HEWITT W. B., CORY L., 1968. Übertragung des Fanleaf Virus durch Reben-Samen-und einige Ergebnisse des Virusnachweises in Samen. *Weinb. Keller*, **15**, 517-518.
- HOPKINS D. L., MOLLENHAUER H. H., 1973. Rickettsin-like bacterium associated with Pierce's disease of grapes. *Science*, **179**, (4070), 298-300.
- HUGLIN P., JULLIARD B., 1962. Résultats de la sélection clonale de la Vigne en Alsace. *Ann. Amélior. Plantes*, **12** (2), 123-150.
- HUGLIN P., JULLIARD B., 1964. Sur l'obtention de semis de Vigne très vigoureux, à mise à fruits rapide et ses répercussions sur l'amélioration génétique de la Vigne. *Ann. Amélior. Plantes*, **14** (3), 229-244.
- HUGLIN P., 1971. Caractéristiques bioclimatiques des cépages et des vignobles. « Viticulture et pathologie vinicole ». *13^e Congrès intern. de la Vigne et du Vin*, Mendoza (Argentine), mars 1971, O. I. V., sect.-I, Rapp. nation. France, 20 p.
- HUGLIN P., 1972. La sélection de la Vigne en France. *Weinb. Keller*, **19** (7), 383-391.
- HUGLIN P., 1973. Rapport sur l'activité « Vigne » du Département Amélioration des Plantes. (Données non publiées).
- IYER C. P. A., RANDHAVA G. S., 1965. Chemical induction of pollen sterility in grapes. *Curr. Sci.*, **34**, (13), 411-412.
- JASA B., KANDEVA R., SVEJCAR V., POSTBIEGL B., 1969. Étude de l'aptitude au transport de quelques variétés de raisins de table importées. *Connaiss. Vigne Vin*, **3** (3), 251-264.
- JAULMES P., 1967. Utilisation du gaz carbonique et de l'azote en œnologie et dans l'industrie du jus de raisin. *Bull. O. I. V.*, **40**, 147-165.
- JELENKOVIC G., OLMO H. P., 1969. Cytogenetics of *Vitis*. *Vitis*, **8**, 265-279.
- JULLIARD B., 1970. Erkenntnisse aus dem Bereich der Rebenveredlungsforschung und der Rebschul-technik. *Weinb. Keller*, **17**, 527-544.
- JULLIARD B., 1973. *Étude physiologique de la rhizogenèse et des conditions de réussite du greffage de la Vigne*. Thèse, Paris VI.
- KLIEWER W. M., NASSAR A. R., OLMO H. P., 1966. A general survey of the free amino acids in the genus *Vitis*. *Amer. J. Enol. Vitic.*, **17**, 112-117.
- KOBLET W., 1966. Fruchtansatz bei Reben in Abhängigkeit von Triebbehandlung und Klimafaktoren. *Wein Wiss.*, **8**, 345-379.
- KONDO I. N., 1963. Résistance de la Vigne au froid de l'hiver. *Bull. O. I. V.*, **383**, 574-581.
- LAZIC S., 1973. Analyse du génotype de quelques cépages de *Vitis vinifera* L. Hérité de la couleur de la pellicule de la Vigne. *Symposium international sur la Sélection de la Vigne*, Geilweilerhof-Siebel-dingen (R. F. A.) (sous presse).
- LEVADOUX L., 1946. La fleur et la sexualité chez la Vigne. *Annales de l'École nationale d'Agriculture, Montpellier*, **27**, 1-90.
- LEVADOUX L., BOUBALS D., RIVES M., 1962. Le genre *Vitis* et ses espèces. *Ann. Amélior. Plantes*, **12** (1), 19-44.
- LEVADOUX L., 1968. Essai de regroupement phyllogénétique des Vignes vraies d'Amérique. *Rev. Hortic. Vitic.*, 7-8, 31-38.
- LEGIN R., 1972. Expérimentation pour étudier l'effet des principales viroses sur la végétation et la production de la Vigne. *Ann. Phytopathol.* n° hors série, 49-57.
- MARTINIÈRE P., SAPI S. J. C., 1967. Essais de pressurage et de vinification sous atmosphère de gaz carbonique en Bordelais. *Connaiss. Vigne Vin*, **2**, 64-72.
- MILLIER, TOMASSONE, 1968. Éléments d'analyse statistique à plusieurs variables. *Séminaire I. N. R. A. de Biométrie*, Station de Biométrie, Nancy.
- MORTENSEN J. A., 1968. The inheritance of resistance to Pierce's disease (virose) in *Vitis*. *Proc. Amer. Soc. hort. Sci.*, **92**, 331-337.
- MULLER W. R., STOLL K., 1950. Mutative Färbungsänderungen bei Weintrauben. *Züchter*, p. 288.
- NEAGU M. A., 1968. Génétique et amélioration de la Vigne. Rapport général présenté au XII^e congrès 1968. *Bull. O. I. V.*, **454**, 1299-1337.
- NEGI S. S., OLMO H. P., 1966. Sex conversion in a male *Vitis-vinifera* L. by a kinin. *Science*, **152**, 1624-1625.
- NEGI S. S., OLMO H. P., 1970. Studies on sex conversion in male *Vitis vinifera* L. (*Sylvestris*). *Vitis*, **9** (2), 89-96.
- NEGRUL A. M., 1936. Variabilität-und Vererbung des Geschlechts bei der Rebe. *Gartenbauwissenschaft*, **10**, 215-231.
- NEGRUL A. M., 1946. Origine de la vigne cultivée et sa classification. (en russe). *Ampelografia S. S. S. R.*, **1**, 159.
- NEGRUL A. M., 1968. Problèmes de l'origine et de la sélection de la Vigne d'un point de vue génétique (en russe). *Genetika*, **3**, 84-97.
- OLMO H. P., 1942. Storage of grape pollen. *Proc. Am. Soc. hort. Sci.*, **41**, 219-224.

- OLMO H. P., 1952. Breeding tetraploid grapes. *Proc. Amer. Soc. hort. Sci.*, **59**, 285-290.
- OLMO H. P., 1954. L'hybride *Vinifera* $\times$ *rotundifolia* et sa valeur en obtention. *Bull. O. I. V.*, **278**, 68-75.
- OLMO H. P., 1971. *Vinifera* $\times$ *rotundifolia* hybrides as wine grapes. *Amer. J. Enol. Vitic.*, **22**, 87-91.
- PAINTER R. H., 1951. *Insect resistance in crop plants*. MacMillan, New York, 520 p.
- PANDEY K. K., 1972. Origin of genetic variation : regulation of genetic recombination in the higher organisms a theory. *Theor. Appl. Genet.*, **42**, 250-261.
- PANDEY K. K., 1974. Elimination of heterozygosity and efficiency of genetic systems. *Theor. Appl. Genet.*, **44** (5), 199-205.
- PATEL G. I., OLMO H. P., 1955. Cytogenetics of *Vitis*. I. The hybrid *V. vinifera* $\times$ *V. rotundifolia* *Amer. J. Bot.*, **42**, 141-159.
- PETIT C., PREVOST G., 1968. *Génétique et évolution*. p. 243. Collection Méthodes Hermann, Paris.
- PLANCHON J.-E., 1887. Monographie des Ampelidaceae vraies. *Monographia Phanagomorum*, A et C de Candolle, **5**, 305-648 (Paris, éd. Masson).
- POSPISILOVA D., 1963. Einfluss von Bor auf die Pollenkeimung und auf die Fruchtbarkeit der Rebe. *Pokroky Vinohradn Vinarskom Vyskume* (Bratislava), **11**-30.
- POUGET R., 1972. (Communication personnelle).
- POUGET R., JUSTE C., 1972. Le choix des porte-greffes de la Vigne pour les sols calcaires. *Connaiss. Vigne Vin*, **4**, 357-364.
- POUGET R., OTTENWALTER M., 1973. Les problèmes posés par la sélection de porte-greffes résistants à la chlorose calcaire. *Symposium international sur la sélection de la Vigne*, Geilweilerhof-Sieboldingen (R. F. A.) (sous presse).
- RANKINE B. C., POCOCK K. F., 1971. Die experimentale Weinherstellung in kleinen Mengen. *Mitt. Klosterneuburg*, **21** (2), 99-104.
- REUTHER G., BECKER H., 1973. Méthodes et résultats du diagnostic précoce de la résistance au froid d'hiver. *Symposium international sur la Sélection de la Vigne*, Geilweilerhof-Sieboldingen (R. F. A.) (sous presse).
- RIBEREAU-GAYON P., 1971. Les arômes des vins et des eaux-de-vie de vin, leur formation et leur évolution. *Rapport général du XIII^e congrès O. I. V.*, *Bull. O. I. V.*, 431-432.
- RIBEREAU-GAYON J., 1973. Recherche des relations entre les caractères sensoriels des vins rouges et leur composition. *Connaiss. Vigne Vin*, **7** (2), 79-92.
- RIBEREAU-GAYON J., 1973. Interprétation chimique de la couleur des vins rouges. *Vitis*, **12**, 119-142.
- RIVES M., POUGET R., 1959. Le Chasselas « Gros Coulard » mutant tétraploïde. *Vitis*, **2**, 1-7.
- RIVES M., 1961. Bases génétiques de la sélection clonale chez la Vigne. *Ann. Amélior. Plantes*, **11** (3) 337-348.
- RIVES M., 1963. Prospection préliminaire des espèces américaines du genre *Vitis*. *Ann. Amélior. Plantes*, **13** (1), 51-82.
- RIVES M., 1966. Étude critique de dispositifs expérimentaux sur la Vigne. *Ann. Amélior. Plantes*, **16** (4), 411-422.
- RIVES M., 1968. Exposé sur les travaux de HANSON devant le groupe de travail « Méthodes de l'Amélioration des Plantes » à la Station de Recherches d'Arboriculture fruitière d'Angers (données non publiées).
- RIVES M., 1971. Principes d'une étude du déterminisme de la vigueur en vue de la création de variétés nouvelles de porte-greffes de vigueur donnée. *Ann. Amélior. Plantes*, **21**, 5-13.
- RIVES M., 1971. In : RIBEREAU-GAYON J., PEYNAUD E., *Science et techniques de la Vigne*. **1**, 129-219, Éd. Dunod, Paris.
- RIVES M., 1972. Interprétation statistique des données résultant du classement par ordre de préférence ou de mérite de n vins par m dégustateurs. *Connaiss. Vigne Vin*, **6** (2), 213-222.
- RIVES M., 1973. Les vignes sauvages comme sources de gènes pour l'amélioration. *Symposium international sur la Sélection de la Vigne*, Geilweilerhof-Sieboldingen (R. F. A.) (sous presse).
- SAURER W., ANTCLIFF A. J., 1969. Polyploid mutants in grapes. *HortScience*, **4**, 226-227.
- SOKAL R. R., 1961. Distance as a measure of taxonomic similarity. *Systematic Zool.* (Lawrence, Kans.), **10**, 70-79.
- SOKAL R. R., SNEATH P. H. A., 1963. *Principles of numerical taxonomy*. W. H. FREEMAN and Co, San Francisco and London, 359 p.
- SCHAEFFER A., 1968. Modalités de la vinification des vins blancs secs sous atmosphère de gaz carbonique. *Industries alim. agric.*, **12**, 1619-1628.
- SHARMA R. L., MUKHERJEE S. K., 1972. Morphological description of some induced systematic mutants of grapes (*V. vinifera* L.). *Vitis*, **11**, 177-192.
- SOMERS T. C., 1971. The polymeric nature of wine pigments. *Phytochemistry*, **10**, 2175-2186.
- STAUDT G., KASSRAWI M., 1972. Meiosis of diploid and tetraploid *Vitis vinifera* « Riesling ». *Vitis*, **11**, 89-98.
- STAUDT G., KASSRAWI M., 1972. Pollen fertility of diploid and tetraploid grape vines. *Vitis*, **11**, 269-279.

- STAUDT G., 1973. Ploidiechimären bei europäischen *Vitis vinifera* Sorten. *Vitis*, **12**, 89-92.
- STAUDT G., KASSRAWI M., 1973. Untersuchungen über das Riesseln di- und tetraploider Reben. *Vitis*, **12**, 1-15.
- STEVENS K. L., BOMBEN J., LEE A., McFADDEN W. H., 1966. Volatiles from Grapes « Muscat of Alexandria ». *J. agric. Food. Chem.*, **14** (3), 249-252.
- SNYDER E., HARMON F. N., 1936. Hastening the production of fruit in grape hybridizing work. *Proc. Amer. Soc. hort. Sci.*, **34**, 426.
- TERRIER A., BOIDRON J. N., 1972. Identification des dérivés terpéniques dans les raisins de certaines variétés de *Vitis vinifera*. I. Techniques expérimentales. *Connaiss. Vigne Vin*, **6**, 69-85.
- THOMPSON M. M., OLMO H. P., 1963. Cytohistological studies of cytochimeric and-tetraploid grapes. *Amer. J. Bot.*, **50**, 901-906.
- TSEKHMISTRENKO P. E., FILINOVA N. P., 1971. Über die Vererbarkeit der Beerengrosse durch Sämmlinge. *Sadovod Vinogradar. i. Vinodel. Moldavi*, **26** (7), 21-23 (in *Vitis* 1972, **12**, p. 158).
- TSEKHMISTRENKO P. E., FILINOVA N. P., 1972. On the importance of muscat aroma by *Vitis vinifera* L. seedlings. *Tsitol. Gent.*, **6** (4), 324-327.
- UUITTENEZ A., 1960. Mise en évidence chez les vignes atteintes de Dégénérescence infectieuse d'un virus transmissible mécaniquement aux chénopodes. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, Sér. D, **251**, 783-785.
- UUITTENEZ A., MUNCK M. C., KUSZALA J., 1964. Mise en évidence du virus de la Dégénérescence infectieuse par test sérologique et observation des particules caractéristiques dans des extraits de feuilles de vigne malades. *C. R. Acad. Sci. Paris, Sér. D*, **259**, 2156-2158.
- UUITTENEZ A., 1966. Observations sur une mosaïque de la Vigne, probablement indépendante du virus du Court-Noué. *Études Virologie, Ann. Épiphyties*, **17**, n° hors série, 67-73.
- UUITTENEZ A., 1970. Méthode de diagnostic des viroses de la Vigne. *Bull. O. I. V.*, **43** (475), 926-943.
- UUITTENEZ A., KUSZALA J., 1972. Expérimentation d'améliorations récentes apportées aux techniques de détection des virus chez la Vigne, par des procédés physiques et sérologiques. *Ann. Phytopathol.*, n° hors série, 155-165.
- WAGNER E., 1958. Über spontane tetraploide Mutanten von *Vitis vinifera* L. *Vitis*, **1**, 197-217.
- WAGNER R., 1965. Sélection progressive de variables utilisant la statistique D 2 de MAHALANOBIS. Application à la détermination de la meilleure fonction discriminante séparant deux populations de semis de Vigne. *Ann. Amélior. Plantes*, **15** (2), 159-181.
- WAGNER R., 1967. Étude de quelques disjonctions dans les descendance de « Chasselas », « Muscat Ottonel » et « Muscat à petits grains ». *Vitis*, **6**, 353-363.
- WAGNER R., BRONNER A., 1974. Étude de la fertilité des semis de *Vitis vinifera* : application à la mise au point d'un test précoce de sélection. *Ann. Amélior. Plantes* **24** (2), 145-157.
- WAGNER R., DIRNINGER N., FUCHS V., 1974. Résultats préliminaires concernant l'étude génétique de substances odorantes décelées par chromatographie en phase gazeuse dans les fruits mûrs d'une descendance de *Vitis vinifera*. *Colloque C. N. R. S. « Facteurs et régulation de la maturité des fruits. »* (sous presse).
- WALLEAU W. D., 1916. Inheritance of sex in the grape. *Ann. Naturalist.*, **50**, 554-561.
- WEBB A. D., KEPNER R. E., MAGGIORA L., 1966. Gas chromatographic comparison of volatile aroma materials extracted from eight different muscat flavored varieties of *Vitis vinifera*. *Ann. J. Enol. Vitic.*, **17**, 247-254.
- WOLF E., 1970. Heteroploide Kreuzungen bei *Vitis vinifera* und der Vergleich von P 1 und F 1 -Typen innerhalb eines Sortiment. *Z. Pflanzenzücht.*, **64**, 224-241.
- X., 1972. Décomposition de la production de la tranche « produits de l'agriculture et de la sylviculture » de 1965 à 1971. *Statistique agricole*, **1**, 386.
- ZOTOV V. V., PLISKANOVSKIY V. A., 1973. Nature de la résistance des baies de raisins à la pourriture grise (en russe). *Mikologia i Fitopatologia*, **7** (3).

RECHERCHES SUR LA VIGUEUR HYBRIDE CHEZ LE BLÉ

I. — RÉSULTATS D'ESSAIS RÉALISÉS EN 1971-72 ET 1972-73

Ph. AURIAU, P. PLUCHARD* et B. MASSERET
avec la collaboration technique de C. DEPATUREAUX et C. FALLOT

*Station de Génétique et d'Amélioration des Plantes,
Centre national de Recherches agronomiques, I. N. R. A.,
78000 Versailles*

** Domaine Brunehaut, I. N. R. A.,
Estrées en Chaussée,
80200 Péronne*

RÉSUMÉ

De gros progrès ont déjà été réalisés depuis que les recherches sur les blés hybrides ont commencé. Mais il est encore trop tôt pour en tirer une conclusion sur les possibilités de cette méthode.

En France on a d'abord tenté de résoudre les problèmes de restauration de la fertilité et de production des semences. Les lignées mâle-stériles et restauratrices obtenues durant cette phase du travail étaient presque toutes isogéniques de cultivars français. Elles ont été croisées entre elles et les hybrides obtenus ont été mis en essais pendant les campagnes 1971-1972 et 1972-1973.

Quelques hybrides ont surclassé leur meilleur parent mais aucun n'a été supérieur aux meilleures variétés commerciales. De nettes différences de valeur moyenne en combinaison ont été mises en évidence entre les lignées parentes. Le degré de restauration de la stérilité mâle a joué un certain rôle dans ces différences, mais il semble que la productivité des lignées parentes soit aussi très importante. La discussion montre qu'il paraît possible d'obtenir des hybrides plus productifs. Elle indique quelles orientations paraissent devoir être données aux recherches. Elle montre enfin qu'il n'y a pas opposition entre sélection de variétés-lignées et sélection de blés hybrides. Un programme orienté vers les blés hybrides doit fournir de bonnes lignées restauratrices susceptibles de devenir des variétés. Et, si les hybrides de première génération qui seront issus de ces lignées sont supérieurs à leurs parents, ils pourront être utilisés immédiatement.

INTRODUCTION

Depuis longtemps de nombreux sélectionneurs de blé ont observé des phénomènes de vigueur hybride sur la première génération des croisements qu'ils réalisaient. Mais c'est seulement lorsque la production des semences de ces hybrides est devenue

possible à l'échelle commerciale par l'emploi de la stérilité mâle cytoplasmique que la recherche systématique des hybrides qui manifestent ce phénomène au plus haut degré a commencé.

Les premiers travaux ont été réalisés avec des semences obtenues par croisement manuel et sur de très petites parcelles en semis clair. Les rendements ont souvent été ramenés à la plante et non à une unité de surface. Dans ces conditions de fortes augmentations de rendement par rapport aux parents ont été observées. Mais certains auteurs comme VARENTSA *et al.* (1971) ont montré la forte influence de la densité de semis sur les manifestations de la vigueur hybride. Les résultats obtenus en semis clair ne peuvent donc être étendus sans vérification aux densités de semis utilisées dans la pratique agricole.

D'autre part PUHAL'SKIJ et MAKSIMOV (1970) ont observé qu'en produisant la semence des témoins, parents en particulier, par castration et par pollinisation croisée, on observait des accroissements de rendement de ces témoins pouvant atteindre 37 p. 100. Il est possible que certains cas de « vigueur hybride » n'aient pas une autre cause. Néanmoins, en traitant les parents comme les hybrides ces auteurs ont encore mis en évidence des phénomènes de vigueur hybride. D'après SAGE et HOBSON (1973) cet effet de la castration et de la pollinisation croisée pourrait être dû à une différence de grosseur du grain. Pour étudier une série d'hybrides, GOJON et PAQUET (1968) ont utilisé les densités de semis de la pratique agricole ; les semences des variétés témoins ont été produites de la même façon que celles des hybrides. Quelques hybrides ont surpassé leur meilleur parent de plus de 10 p. 100 ; cependant ces auteurs ont observé un fort effet de l'origine des semences, dont ils n'ont pas déterminé la cause. Il semble aussi que l'expression de l'hétérosis ait été influencée par le milieu.

Dans l'Ontario, RAI *et al.* (1970) ont obtenu avec leur meilleur hybride un rendement supérieur de 26 p. 100 à celui du meilleur parent, et de 19 p. 100 à celui du meilleur témoin. De l'étude de croisements diallèles, PETERSON *et al.* (1969) puis BITZER *et al.* (1971) ont conclu que c'est l'aptitude générale à la combinaison qui doit être recherchée chez les parents. Et BAIER (1973) a insisté sur l'utilité des testcrosses pour éprouver cette aptitude.

Certains auteurs comme WALTON (1972) se sont préoccupés d'étudier l'effet de la vigueur hybride sur des caractères qui influencent fortement le rendement, comme la surface et la durée de vie de la dernière feuille ou comme la longueur du col de l'épi. PLANCHON (1973) a signalé un cas de vigueur hybride chez l'hybride entre une variété ancienne à forte teneur en chlorophylle et une variété moderne où la surface de la dernière feuille est importante. Cet auteur explique ce résultat par un fort accroissement de la photosynthèse potentielle de la dernière feuille, ce qui avec une densité de semis moitié moindre que celle de la pratique agricole fournit une nette augmentation des rendements.

Dès que des lignées mâle-stériles et restauratrices ont été disponibles des essais ont été réalisés entre des hybrides issus de croisements entre ces lignées. Et comme les semences sont moins coûteuses à obtenir par pollinisation naturelle que par croisement manuel, ces essais ont été réalisés avec les techniques habituelles de l'expérimentation variétale en multipliant les conditions de milieu utilisées. GLOVER et SMITH (1969) n'ont obtenu en moyenne que 3 p. 100 d'augmentation du rendement par rapport aux témoins dans un essai portant sur vingt hybrides et réalisé dans

l'Oklahoma. Par contre sur deux cent six hybrides issus de croisements entre les meilleures lignées mâles-stériles ou restauratrices de la firme Pioneer, HAYWARD *et al.* (1972) indiquent que le gain moyen de rendement des hybrides par rapport au meilleur témoin a été de 14,7 p. 100. Le meilleur hybride a pour sa part produit 41,6 p. 100 de plus que ce témoin. Ces auteurs estiment nécessaire d'éprouver un grand nombre d'hybrides d'origines généalogiques aussi variées que possible pour en trouver un bon. WILSON *et al.* (1972) rapportent que l'hybride « A 227 » de la firme Dekalb a surclassé le témoin « Winalta » de 25 p. 100 dans le Montana et au Canada. ALLAN *et al.* (1974) indiquent que dans l'État de Washington quelques hybrides ont surpassé « Nugaines » de 38 p. 100 en culture sèche et de 100 p. 100 en culture irriguée. Cependant les résultats publiés sur des hybrides de type commercial sont encore trop peu nombreux pour qu'on puisse en tirer une conclusion sur l'avenir des blés hybrides. Et comme l'origine de beaucoup de ces hybrides reste sous le sceau du secret commercial, il faudra attendre qu'ils soient diffusés pour juger de leur intérêt.

Il est certain que l'obtention de lignées mâle-stériles ou restauratrices nombreuses et diverses exige du travail et du temps. Les premières lignées obtenues souffraient toutes de graves défauts agronomiques, qui réduisaient les rendements des hybrides.

Les premières recherches consacrées aux blés hybrides en France avaient pour objet de maîtriser les mécanismes de la stérilité mâle cytoplasmique et de la restauration de cette fertilité. Une série de rétrocroisements a permis d'obtenir des lignées mâle-stériles et restauratrices isogéniques de cultivars français. AURIAU *et al.* (1973) ont montré l'inconvénient de cette méthode qui ne permet pas d'obtenir des hybrides totalement restaurés. C'est pourquoi les lignées restauratrices sont maintenant obtenues par des croisements simples suivis d'une sélection généalogique. D'autre part en se limitant aux cultivars français, on s'est épargné les problèmes d'adaptation aux conditions de notre pays ; mais cela a beaucoup limité la diversité génétique. Le principal intérêt de ce matériel est donc d'être homologue de cultivars parfaitement connus, ce qui en fait un bon matériel d'études.

On a pu résoudre les problèmes que posait la production des semences, et notamment dans le Nord de la France, l'insuffisance de la pollinisation croisée, les attaques d'ergot et la germination sur pied. On a alors croisé entre elles toutes les lignées mâle-stériles et restauratrices obtenues pour éprouver systématiquement les hybrides. Ce n'est qu'à partir de la récolte de 1971 que de bonnes semences ont été obtenues. Les essais dont il va être rendu compte ici ont été réalisés en 1971-1972 et 1972-1973. Ces essais ont cherché à répondre aux questions suivantes : quelle est l'influence sur le rendement du cytoplasme de *T. timopheevi* ? Quelle est l'influence de la provenance des semences ? On a essayé de trouver un hybride utilisable à l'échelle commerciale ; mais on a surtout cherché s'il y avait entre les lignées parentes des différences de valeur en combinaison, de façon à dégager l'orientation à donner aux futures recherches.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le tableau 1 donne la liste des cultivars qui ont servi de base à ces travaux avec leur généalogie. Toutes les lignées mâle-stériles étudiées ici portent le cytoplasme de *T. timopheevi*. Il en est de même pour les lignées restauratrices à l'exception de « Palmaress 6 ».

TABLEAU I

Liste et origine généalogique des cultivars
à l'origine des lignées parentes des hybrides étudiés

<i>Variétés françaises</i>	Années (1)	
<i>a) d'hiver</i>		
« Magdalena »	1949	K8 - « Szeckacz » × « Providence »
« Champlain »	1959	« Tadépi » × « Yga »
« Prestige »	1959	« Blé Bohémien » - « Blé Seigle » × « Providence » - « Petit Quinquin »
« Primépi » (2)	1962	Sélection dans « Superhâtif »
« Moisson »	1963	« Cappelle » × 80-3 - « Étoile de Choisy »
« Capitole »	1964	« Cappelle » × 80-3 - « Étoile de Choisy »
« Splendeur »	1964	« Cappelle » × 80-3 - « Étoile de Choisy »
« Prieur »	1966	90-2 - « Étoile de Choisy » × « Cappelle »
« Joss »	1966	« Heine VII » (s) (3) - « Tadépi » × « Cappelle »
« Palmares 6 » (2)		« Heine VII » (s) - « Tadépi » × « Cappelle »
« Heima »	1968	« Marne » × « Heine VII »
« Hardi »	1969	« Cappelle » × « Cappelle » - « Thatcher »
« Top »	1970	[(« Providence » - « Vilmorin 27 ») × « Étoile de Choisy »] × « Cappelle »
<i>b) de printemps</i>		
« Rex »	1962	« Vilmorin 29 » × « Thatcher »
« Horizon »	1964	« Thatcher » - « Hybride de Bersée » × « Alex »
« César »	1968	293 × « Péko »
<i>Variétés étrangères</i>		
<i>a) d'hiver</i>		
« Clément »	1973	(« Hope » - « Timstein ») « Heine VII » × (« Riebesel 57-4 » - « Heine VII ») « Cleo »
« Gaines »	—	« Norin 10 » × « Brévior »
« Professeur Marchal » (2)	—	« Hybride du Jonquois » - « Professeur Delos » × « Bastard II » - « Professeur Delos »
« Stella » (2)	—	« Hybride du Jonquois » - « Professeur Delos » × « Bastard II » - « Professeur Delos »
<i>b) de printemps</i>		
« Aronde »	1962	« Thatcher » - « Teutonen » × « Koga »
« Kolibri »	1972	« Heine 2174 » - « Péko » × « Koga II »
« R3-1 » (2)	—	<i>T. timopheevi</i> × « Marquis » ³
<i>Lignées I. N. R. A.</i>		
<i>a) d'hiver</i>		
81-4	Versailles	« Choisy » (s) - « Yga » × 80-3 - « Choisy »
81-12	—	« Choisy » (s) - « Yga » × 80-3 - « Choisy »
Mexique 50 × B 21, 16.4.3.3.	Clermont- Ferrand	« Mayo 54 » (« Norin 10 » - « Brévior ») × B 21
Mexique 50 × B 21, 42-2	—	« Mayo 54 » (« Norin 10 » - « Brévior ») × B 21
Mexique 11 × B 21	—	« Willet » (s) (« Norin 10 » - « Brévior ») × B 21
<i>b) de printemps</i>		
8-1	Versailles	« Fortschritt » × 80-3 - « Choisy »
13-4	—	« Fortschritt » × « Saunders » - « Choisy »

(1) Inscription au catalogue français.

(2) Cultivar porteur de gènes de restauration.

(3) Le signe (s) indique qu'il s'agit d'une lignée-sœur du cultivar dont le nom précède.

Les sources des gènes de restauration utilisées pour obtenir les lignées restauratrices sont indiquées au tableau 1. Toutes les lignées restauratrices porteuses de gènes de restauration provenant de *T. timophevi* ou de « Primépi » peuvent être considérées comme isogéniques des cultivars dont elles sont issues. Mais celles qui dérivent de « Professeur Marchal » et de « Stella » ont été obtenues par un simple croisement suivi d'une sélection généalogique.

Les semences utilisées ont été produites en 1970-1971 au Domaine Brunehaut (80), et en 1971-1972 à la fois à Arles (13) et au Domaine Brunehaut, ce qui a permis d'éprouver l'influence de l'origine des semences. Quatre-vingt-quatorze hybrides de type hiver et vingt hybrides de type printemps ont été mis en essai en 1971-1972. Les meilleurs d'entre eux ont été remis en essai en 1972-1973.

En outre, cinquante hybrides de type hiver et soixante-quinze hybrides de type printemps ont été éprouvés pour la première fois en 1972-1973. Bon nombre de ces derniers avaient pour parents les homologues mâle-stériles de lignées demi-naines sélectionnées à Clermont-Ferrand, ou de la variété demi-naine américaine « Gaines ».

Beaucoup d'hybrides de printemps éprouvés en 1973 avaient un de leurs parents de type hiver, l'obtention de tels hybrides ayant été facilitée par la production des semences dans le Midi.

Les différents essais ont été répartis entre les stations suivantes :

- Boigneville (91)
- Clermont-Ferrand (63)
- Dijon (21)
- La Brosse-Montceaux (77)
- Le Domaine Brunehaut (80)
- Toury-Janville (28)
- Versailles (78)

En 1972, au Domaine Brunehaut, une répétition sur deux des essais d'hybrides d'hiver avait reçu un traitement fongicide. Ce traitement consistait en une pulvérisation fine d'une solution de bénomyl (0,500 kg/ha) et de mancozèbe (1,500 kg/ha). Il a été répété en début et en fin de moisson et une troisième fois entre l'épiaison et la floraison.

En 1973, des traitements semblables ont été effectués sur la moitié ou la totalité des répétitions selon les stations. A Rennes cependant on a utilisé un produit à base de méthylthiophanate (750 g MA/ha) et de manèbe (1 500 g MA/ha). Seule la Station de Clermont-Ferrand n'a pas effectué de traitement parce que le risque que constituent les maladies y est moindre qu'ailleurs. Grâce à ces traitements les dégâts de maladies ont été faibles. Par contre la sécheresse qui a sévi en 1972-1973 a réduit les rendements en beaucoup de stations ; on a dû renoncer à exploiter les résultats de certains essais.

RÉSULTATS

A. — EFFET DU CYTOPLASME DE *T. TIMOPHEVI*

Pour s'assurer que le cytoplasme de *T. timophevi* est sans effet délétère sur le rendement un essai a été réalisé à Versailles en 1971-1972.

On a comparé les rendements de l'hybride *ms* « Capitole » × RP « Champlein »⁴, 54-4-9 obtenu en pollinisation libre et de l'hybride « Capitole » × RP « Champlein »⁴, 54-4-9 obtenu par croisement manuel. On a complété l'essai par l'hybride *ms* « Capitole » × R₃₋₁ - « Champlein »⁶, 40-4 et les témoins « Champlein » et « Capitole ». L'hybride obtenu entre « Capitole » et la lignée restauratrice de « Champlein » portant les gènes de restauration de « Primépi » a été significativement supérieur à ces deux variétés, quel que soit le cytoplasme. Il n'y a pas eu de différence significative de rendement entre les deux hybrides qui ne différaient que par le cytoplasme (tabl. 2). Ce résultat est d'autant plus intéressant que le niveau de rendement atteint dans cet essai était élevé.

TABLEAU 2

*Rendements en grain comparés de deux hybrides ayant le même noyau
et des cytoplasmes différents*

(Versailles 1972)

Hybrides ou témoins	Rendements		Signification des écarts
	q/ha	p. 100	
« Capitole » × RP « Champlein » ⁴ , 54-4-9 (1) (cyto. <i>aestivum</i>)	99,4	117,6	<i>a</i>
ms « Capitole » × RP « Champlein » ⁴ , 54-4-9 (1) (cyto. <i>timopheevi</i>)	94,2	111,4	<i>ab</i>
ms « Capitole » × R3-1 - « Champlein » ⁶ , 40-4 (2) (cyto. <i>timopheevi</i>)	90,7	107,3	<i>bc</i>
« Champlein » (t) (3) (cyto. <i>aestivum</i>)	84,5	100,0	<i>c</i>
« Capitole » (t) (cyto. <i>aestivum</i>)	83,6	98,9	<i>c</i>

(1) Gènes de restauration de « Primépi ».

(2) Gènes de restauration de *T. timopheevi*.

(3) (t) pour « témoin ».

TABLEAU 3

Rendements moyens obtenus dans l'essai de provenance de semences

(Domaine Brunehaut 1973)

Hybrides et témoins	Rendements		Signification des écarts
	q/ha	p. 100 (4)	
ms « Capitole » × RP « Champlein » ⁴ , 54-4-9 (1)	73,4	103,2	<i>a</i>
ms « Capitole » × R3-1 × « Champlein » ⁶ , 40-4 (2)	71,8	100,9	<i>ab</i>
ms « Capitole » × « Palmaress 6 » (3)	71,5	100,5	<i>ab</i>
ms « Splendeur » × RP « Champlein » ⁴ , 54-4-9 (1)	71,2	100,1	<i>b</i>
« Capitole » (t)	71,1	100,0	<i>b</i>
ms « Champlein » × « Palmaress 6 » (3)	70,6	99,3	<i>b</i>

(1) Gènes de restauration de « Primépi ».

(2) Gènes de restauration de *T. timopheevi*.

(3) Gènes de restauration de « Palmaress 6 ».

(4) P. 100 de « Capitole ».

B. — EFFET DE LA PROVENANCE DES SEMENCES

Un essai factoriel a été réalisé au Domaine Brunehaut en 1972-1973, pour comparer les rendements de quelques hybrides dont les semences avaient été produites à Arles (13) et au Domaine Brunehaut (80) l'année précédente. Cinq hybrides sur cytoplasme de *T. timopheevi* et la variété « Capitole » figuraient dans cet essai, qui avait bénéficié de traitements fongicides. Le rendement moyen obtenu dans cet essai était de 71,6 quintaux par hectare, mais la différence entre les moyennes de rendement des deux provenances n'était que de 0,38 quintal par hectare, valeur non significative. L'interaction « variétés $\times$ origines des semences » n'était pas non plus significative. Les moyennes variétales figurent au tableau 3.

C. — RECHERCHE DE COMBINAISONS HÉTÉROTIQUES

*Blés d'hiver**Essais de 1971-1972.*

Parmi les hybrides mis en essai, quelques-uns seulement ont surclassé leurs parents. Le tableau 4 indique les performances des meilleurs d'entre eux. Mais le seul à avoir significativement surclassé « Champlein » sur la moyenne de plusieurs stations est *ms* « Champlein » $\times$ « Palmaress 6 », or cet hybride n'a pas surclassé « Palmaress 6 » dans la seule station où il ait été comparé à ce parent.

L'hétérosis qui s'est manifesté dans certaines stations ne s'est donc pas retrouvé sur les moyennes interstations. Une des causes de ces phénomènes pourrait être une restauration incomplète de la fertilité mâle, puisque tous les auteurs s'accordent à noter que ce phénomène dépend fortement du milieu. En particulier, les mauvais résultats obtenus par les hybrides obtenus à partir de « Moisson » semblent bien dus à une mauvaise restauration.

Une autre cause a cependant contribué à masquer l'hétérosis dans certaines situations, c'est la sensibilité aux maladies de nombreux hybrides. En effet sur certains essais réalisés au Domaine Brunehaut trois répétitions traitées aux fongicides alternaient avec trois répétitions non traitées. La différence entre parcelles traitées et non traitées était spectaculaire ; en particulier les parcelles traitées étaient exemptes de verse. Les maladies qui paraissaient les plus importantes étaient l'Oïdium, la Septoriose (*S. nodorum*), la Rouille Jaune et les Fusarioses. Le tableau 5, où sont analysés quelques-uns des résultats obtenus de cette façon montre bien à quel point les maladies peuvent modifier le classement des hybrides et la valeur en combinaison des parents. Comme le risque que constituaient les maladies était très variable d'une station à l'autre, l'effet « Stations » a modifié le classement des hybrides, ce qui a contribué à niveler les moyennes.

*Essais 1972-1973.**Hybrides en deuxième année d'essais.*

Les meilleurs hybrides de l'année précédente avaient été réunis avec quelques hybrides issus de *ms* « Moisson ». Cet essai était répété en six stations, mais du fait

TABLEAU 4

Résultats d'essais de rendement de blés hybrides d'hiver en 1971-72
(rendements exprimés en p. 100 de « Champlein »)

	Rendement le plus élevé en 1972		Moyennes		Taux de stérilité ⁽⁴⁾
	Station	p. 100	p. 100	Signif.	
1° Six milieux ⁽¹⁾					
<i>ms</i> « Capitole » × « Palmaress 6 »	Dijon	106,4	104,6	<i>a</i>	40
<i>ms</i> « Splendeur » × « RP « Champlein » ⁴ , 54-4-9	Clermont-Ferrand	107,9			
<i>ms</i> « Capitole » × R3-1 « Champlein » ⁶ , 40-4	Dijon	106,9	103,7	<i>a</i>	30
	Versailles	107,4	103,4	<i>a</i>	60
<i>ms</i> « Capitole » × RP « Champlein » ⁴ , 54-4-9	—	111,5	102,2	<i>a</i>	20
« Champlein »	—	100,0	100,0	<i>ab</i>	0
« Capitole »	—	—	96,0	<i>b</i>	0
			100 = 67,5 q/ha		
2° Trois milieux ⁽²⁾					
<i>ms</i> « Champlein » × « Palmaress 6 »	Dijon	119,1			
	Brunehaut	109,9	109,7	<i>a</i>	30
« Champlein »	—	100,0	100,0	<i>b</i>	0
			100 = 66,2 q/ha		
3° Trois conditions ⁽³⁾					
« Capitole »	Brunehaut	—	100,3	<i>a</i>	0
« Champlein »	—	—	100,0	<i>a</i>	0
<i>ms</i> « Moisson » × RP « Champlein » ⁴ , 54-4-9	—	—	95,1	<i>ab</i>	60
<i>ms</i> « Moisson » × R3-1 « Champlein » ⁶ , 40-4	—	—	89,0	<i>b</i>	70
<i>ms</i> « Moisson » × « Palmaress 6 »	—	—	78,9	<i>c</i>	70
			100 = 62,5 q/ha		

⁽¹⁾ Domaine Brunehaut (80) avec ou sans traitement, La Minière (78), Rennes (35), Toury-Janville (28), Clermont-Ferrand (63), Dijon (21).

⁽²⁾ Domaine Brunehaut (80), sans traitement, Dijon (21), Clermont-Ferrand (63).

⁽³⁾ Domaine Brunehaut (80), avec ou sans traitement, Toury-Janville (28).

⁽⁴⁾ Pourcentage moyen d'épilletés stériles sur 50 épis ensachés ou taux de stérilité (TS) au Domaine Brunehaut (80).

TABLEAU 5

*Influence des traitements fongicides sur les écarts entre les rendements ⁽¹⁾ des moyennes des hybrides issus d'un même parent femelle
(Domaine Brunchaut 1971-1972)*

VIGUEUR HYBRIDE CHEZ LE BLÉ

Parent femelle	Parent mâle	Avec traitement			Sans traitement		
		Hybrides	Moyenne	Signification des écarts	Hybrides	Moyenne	Signification des écarts
<i>ms</i> « Capitoile »	RP « Champlein » ⁴ , 54-4-9	101,8	101,3	$d = 0,7$ (NS)	104,6	95,8	$d = 4,9$ (S)
	RP 81-4 ⁵	95,7			79,2		
	« Palmaress 6 »	107,8			103,4		
<i>ms</i> « Splendeur »	RP « Champlein » ⁴ , 54-4-9	103,2	100,6		92,9	80,9	
	RP 81-4 ⁵	100,1			66,1		
	« Palmaress 6 »	98,5			83,9		
<i>ms</i> « Champlein »	RP « Champlein » ⁴ , 54-4-9	98,8	103,6	$d = 6,0$ (HS)	103,9	103,1	$d = 34,4$ (HS)
	RP 81-4 ⁵	103,3			93,4		
	« Palmaress 6 »	109,9			112,0		
<i>ms</i> 81-12	RP « Champlein » ⁴ , 54-4-9	100,4	97,6		84,5	78,7	
	RP 81 4 ⁵	89,9			38,4		
	« Palmaress 6 »	102,5			76,9		
<i>ms</i> « Moisson »	RP « Champlein » ⁴ , 54-4-9	91,7	86,4	$d = 6,7$ (HS)	95,3	81,7	$d = 9,5$ (HS)
	RP 81-4 ⁵	85,0			73,2		
	« Palmaress 6 »	82,5			76,2		
<i>ms</i> « Prieur »	RP « Champlein » ⁴ , 54-4-9	92,3	93,1		100,0	91,2	
	RP 81-4 ⁵	93,5			84,0		
	« Palmaress 6 »	93,3			89,5		

⁽¹⁾ Rendements exprimés en pourcentage du rendement de « Champlein » dans les mêmes conditions (essai, traitement).

A titre indicatif le rendement moyen de cette variété sur les trois essais était de :

— avec traitement = 69,4 quintaux par hectare,

— sans traitement = 55,2 quintaux par hectare.

de la sécheresse, les résultats de deux stations n'ont pas pu être exploités. Les résultats obtenus sur la moyenne des quatre stations restantes figurent au tableau 6. En utilisant l'interaction variétés $\times$ stations, on constate que l'hybride *ms* « Capitoile » $\times$ RP « Champlein »⁴, 54-4-9 a surclassé significativement ses deux parents (test de Duncan 0,05). Toutefois, le gain de rendement a été médiocre, et cet hybride n'a pas surclassé significativement « Palmaress 6 ». L'hybride *ms* « Champlein » $\times$ « Palmaress 6 » n'a surclassé aucun de ses parents, et s'est donc montré inférieur à ce qu'il était l'année précédente. Des résultats plus satisfaisants seraient probablement obtenus avec une meilleure restauration ; mais « Palmaress 6 » n'est pas bon restaurateur.

TABLEAU 6

Résultats des essais 1972-1973 de blés hybrides d'hiver en deuxième année d'essais
(moyenne de quatre stations) ⁽¹⁾

	Rendements		Signification des écarts ⁽²⁾	Taux de stérilité ⁽³⁾
	q/ha	p. 100		
<i>ms</i> « Capitoile » $\times$ RP « Champlein » ⁴ , 54-4-9	63,5	105,5	<i>a</i>	29
<i>ms</i> « Capitoile » $\times$ « Palmaress 6 »	62,8	103,3	<i>a</i>	38
<i>ms</i> « Capitoile » $\times$ R 3-1 « Champlein » ⁶ , 40-4	62,7	104,2	<i>ab</i>	27
<i>ms</i> « Champlein » $\times$ « Palmaress 6 »	61,8	102,7	<i>abc</i>	33
« Palmaress 6 »	61,6	102,3	<i>abc</i>	3
<i>ms</i> « Splendeur » $\times$ RP « Champlein » ⁴ , 54-4-9	61,4	102,0	<i>abc</i>	—
« Champlein »	60,2	100,0	<i>bcd</i>	2
« Capitoile »	59,8	99,3	<i>cde</i>	1
<i>ms</i> « Moisson » $\times$ R 3-1 « Champlein » ⁶ , 40-4	58,4	97,0	<i>de</i>	—
<i>ms</i> « Moisson » $\times$ RP « Champlein » ⁴ , 54-4-9	57,5	95,5	<i>e</i>	—

⁽¹⁾ Domaine Brunehaut (80), Rennes (35), La Brosse Montceaux (77), Clermont-Ferrand (63).

⁽²⁾ En utilisant l'interaction variétés $\times$ stations et le test de Duncan au seuil 0,05.

⁽³⁾ Pourcentage moyen d'épilletés stériles sur 50 épis enséchés ou taux de stérilité (TS) au Domaine Brunehaut (80).

Par contre l'effet perturbateur des maladies a été limité par l'emploi général des traitements fongicides. C'est peut-être ce qui a permis de mettre en évidence une légère vigueur hybride. La comparaison sur l'essai de Rennes des trois répétitions traitées et des trois répétitions non traitées (tabl. 7) montre que l'effet sur les rendements des traitements fongicides est allé dans le même sens qu'au Domaine Brunehaut l'année précédente. Toutefois, l'augmentation de résistance à la verse n'a été observée cette année ni à Rennes, ni au Domaine Brunehaut.

Hybrides en première année d'essais.

A Clermont Ferrand dix-sept hybrides ont significativement (test de Duncan au seuil de 0,05) surclassé le témoin « Champlein » et aussi leur parent mâle (tabl. 8). Au Domaine Brunehaut deux hybrides ont surclassé « Champlein » mais non leur

lignée paternelle commune. Dans les autres stations où certains de ces hybrides ont aussi été éprouvés, aucun d'eux n'a significativement surclassé « Champlein ».

TABLEAU 7

*Résultats du traitement fongicide
sur un essai de blés hybrides d'hiver réalisé à Rennes en 1972-1973 ⁽¹⁾*

	Rendements		Diff. (%)	Verse ⁽¹⁾			
	Traitement			1/6/1973		16/7/1973	
	avec	sans		tr	ntr	tr	ntr
ms « Capitoile » × RP « Champlein » ⁴ , 54-4-9 ...	60,9	53,4	+ 14,0	1	1	7	5
ms « Capitoile » × R3-1 « Champlein » ⁶ , 40-4 ...	60,8	53,1	+ 14,5	1	3	7	5
ms « Capitoile » × « Palmaress 6 »	60,5	51,8	+ 16,8	1	1	7	3
ms « Splendeur » × RP « Champlein », 54-4-9 ..	57,9	47,7	+ 21,4	1	1	8	6
ms « Champlein » × « Palmaress 6 »	59,9	54,9	+ 9,1	1	2	8	6
ms « Moisson » × RP « Champlein » ⁴ , 54-4-9 ..	57,5	50,0	+ 15,1	1	1	6	3
ms « Moisson » × R3-1 « Champlein » ⁶ , 40-4 ..	55,6	48,0	+ 15,8	1	1	6	4
ms « Moisson » × « Palmaress 6 »	41,3	47,8	— 13,6	1	1	4	3
R3-1 × « Champlein » ⁶ , 40-4	58,8	50,3	+ 16,9	1	2	6	5
RP « Champlein » ⁴ , 54-4-9	55,1	49,1	+ 12,2	1	1	6	8
« Palmaress 6 »	53,5	45,9	+ 16,6	1	1	7	7
« Capitoile »	54,8	44,3	+ 23,7	1	4	7	5
« Heima »	61,1	53,8	+ 13,6	1	1	8	8
« Joss »	56,1	46,7	+ 20,1	1	1	5	5
« Champlein »	53,9	45,8	+ 17,8	1	4	6	8
« Clément »	60,9	51,7	+ 17,8	1	1	8	7
« Hardi »	54,5	44,0	+ 23,9	1	2	7	7
« Top »	53,5	42,8	+ 25,0	1	5	7	8

⁽¹⁾ Résultats communiqués par G. DOUSSINAULT. Notes de 0 non verse à 9 totalement à plat, tr = traité, ntr = non traité.

Pour tenter d'expliquer ces différences de comportement on a réuni dans le tableau 8 les résultats d'essais réalisés au Domaine Brunehaut (3 essais) et à Clermont-Ferrand (2 essais). Le témoin commun « Champlein » a fourni dans chaque station des rendements très peu différents d'un essai à l'autre.

Les pourcentages de rendement ont été rapportés au témoin figurant dans le même essai pour pouvoir indiquer la signification des écarts par rapport à ce témoin. Les rendements bruts s'ils ne sont pas directement comparables illustrent peut-être mieux que les pourcentages le fait que les hybrides ont moins varié dans leur comportement entre les deux stations que ne l'ont fait leurs parents.

Valeur en combinaison des lignées parentes.

Au Domaine Brunehaut, tous les hybrides issus d'un même parent mâle étaient réunis dans un même essai avec la lignée restauratrice et quelques témoins. Ce dispositif a permis d'analyser les effets respectifs de lignées parentes, mâle et femelle, pour lesquelles toutes les combinaisons figuraient dans ces essais. On a pu ainsi calculer

TABLEAU 8

Résultats de différents essais de rendement sur des blés hybrides d'hiver nouveaux
(Clermont-Ferrand et Domaine Brunehaut 1972-73)

188

PH. AURIAT, P. PLUCHARD, B. MASSERET

Parents mâles	Parents femelles	Rendements ⁽¹⁾				Taille (cm) ⁽²⁾		Verse ⁽³⁾		TS ⁽⁴⁾
		Clermont-Ferrand		D. Brunehaut		C. F.	D. B.	C. F.	D. B.	
		q/ha	p. 100	q/ha	p. 100					
RP « Champlein » ⁴ , 54-4-9	ms « Capitole »	65,5	104,8	68,7	105,2	100	100	1	4	29
	ms M 50 × B 21, 16-4-3-3	72,4	118,9*	71,3	109,2	100	92	1	5	30
	ms M 50 × B 21, 42-2	73,6	120,9*	65,6	100,5	107	105	1	5	44
	ms M 11 × B 21, 11-2	68,7	112,8*	67,1	102,8	100	106	1	3	42
	ms « Gaines »	57,8	94,9	59,9	91,7	110	106	1	4	11
R 3-1 × « Champlein » ⁶ , 40-4	ms « Capitole »	64,0	102,4	69,4	99,1	110	94	1	4	27
	ms M 50 × B 21, 16-4-3-3	71,6	117,6*	74,7	106,7	100	99	1	5	24
	ms M 50 × B 21, 42-2	72,0	118,2*	72,3	103,2	105	105	1	5	32
	ms M 11 × B 21, 11-2	70,1	115,1*	70,4	100,6	103	101	1	4	32
	ms « Gaines »	58,3	95,7	66,8	95,4	110	108	2	5	11
RM « Capitole » × « Marchal », 2-17	ms « Capitole »	—	—	74,4	113,6*	—	100	—	4	16
	ms M 50 × B 21, 16-4-3-3	70,8	116,3*	74,7	114,0*	103	102	1	5	—
	ms M 50 × B 21, 42-2	70,4	115,6*	67,1	102,5	110	107	1	5	—
	ms M 11 × B 21, 11-2	69,9	114,8*	70,6	107,8	103	102	1	4	—
	ms « Gaines »	56,6	92,9	62,6	95,6	110	109	3	4	—
Témoins et lignées mâles										
« Champlein » (t)		61,7 ⁽⁵⁾	100,0	66,9 ⁽⁶⁾	100,0	103 ⁽⁵⁾	104 ⁽⁶⁾	1	4	2
« Capitole » (t)		59,4 ⁽⁵⁾	95,6	70,3 ⁽⁶⁾	111,9	91 ⁽⁵⁾	96 ⁽⁶⁾	1	5	1
RP « Champlein » ⁴ , 54-4-9		59,3	97,4	70,0	107,2	100	100	1	3	9
R 3-1 × « Champlein » ⁶ , 40-4		62,5	102,6	72,9	104,2	100	96	1	4	1
RM « Capitole » × « Marchal », 2-17		61,9	101,6	73,3	111,9	107	102	1	4	—

⁽¹⁾ P. 100 de « Champlein », (même essai) les astérisques indiquent une différence significative par rapport à « Champlein ».

⁽²⁾ C. F. = Clermont-Ferrand (2 essais) ; D. B. = Domaine Brunehaut (3 essais).

⁽³⁾ 0 = non versé, 9 = 100 pour 100 de verse à plat.

⁽⁴⁾ Pourcentage moyen d'épilletés stériles sur 50 épis ensachés, ou taux de stérilité (TS) au Domaine Brunehaut (80).

⁽⁵⁾ Moyenne de deux essais.

⁽⁶⁾ Moyenne de trois essais.

l'interaction entre ces effets. Le tableau 9 montre les résultats obtenus avec sept lignées mâle-stériles et cinq lignées restauratrices. L'interaction n'était pas significative ; et donc le classement des hybrides obtenus avec les différentes lignées mâle-séitriles n'a pas dépendu du choix des lignées restauratrices.

A Clermont-Ferrand un essai factoriel a également permis de tester les effets propres de quatre lignées restauratrices et de quatre lignées mâle-stériles (tabl. 9). Dans cet essai non plus l'interaction n'était pas significative.

TABLEAU 9

Valeur moyenne en combinaison des lignées parentes des hybrides d'hiver ⁽¹⁾
(1972-1973)

Comparaison des moyennes des rendements des hybrides issus des lignées mâle-stériles		Comparaison des moyennes des rendements des hybrides issus des lignées restauratrices	
a) Domaine Brunehaut			
<i>ms</i> -Mex 50 × B 21, 16-4-3-3	72,6 <i>a</i>	R3-1 × « Champlein » ⁶ , 40-4	70,7 <i>a</i>
<i>ms</i> -« Capitole »	69,6 <i>ab</i>	RP « Champlein » ⁴ , 54-4-9	68,2 <i>ab</i>
<i>ms</i> -Mex 11 × B 21, 11-2	66,8 <i>bc</i>	RM « Capitole » × « Marchal », 2-17	68,0 <i>ab</i>
<i>ms</i> -Mex 50 × B 21, 42-2	66,5 <i>bc</i>	RS « Capitole » × « Stella », 1-9	66,1 <i>b</i>
<i>ms</i> -« Splendeur »	65,0 <i>c</i>	« Palmaress 6 »	62,3 <i>c</i>
<i>ms</i> -« Prestige »	64,8 <i>c</i>		
<i>ms</i> -« Joss »	64,0 <i>c</i>		
b) Clermont-Ferrand			
<i>ms</i> -Mex 50 × B 21, 42-2	71,8 <i>a</i>	RP « Champlein » ⁴ , 54-4-9	68,1 <i>a</i>
<i>ms</i> -Mex 50 × B 21, 16-4-3-3	71,2 <i>a</i>	R3-1 × « Champlein » ⁶ , 40-4	68,0 <i>a</i>
<i>ms</i> -Mex 11 × B 21, 11-2	69,0 <i>b</i>	RM « Capitole » × « Marchal », 2-17	66,9 <i>ab</i>
<i>ms</i> -« Gaines »	56,9 <i>c</i>	RS « Capitole » × « Stella », 1-9	65,8 <i>b</i>

(¹) La signification des différences est déterminée par le test de Duncan (0,05).

On note que les lignées *ms* Mex 50 × B 21, 42-2 et RP « Champlein »⁴, 54-4-9 se classent mieux à Clermont-Ferrand qu'au Domaine Brunehaut. Les autres se classent de la même façon dans les deux stations.

Ces résultats attirent l'attention sur les lignées :

- *ms* Mex 50 × B 21, 16-4-3-3,
- R 3-1 × « Champlein »⁶, 40-4,
- RP « Champlein »⁴, 54-4-9,
- RM « Capitole » × « Marchal », 2-17.

La valeur moyenne en combinaison de ces lignées s'est montrée élevée. On voit sur le tableau 8 que l'hybride résultant de la combinaison du premier et du dernier de ces parents surclasse significativement le témoin « Champlein » dans les deux stations, et son parent mâle à Clermont-Ferrand seulement. Cependant cet hybride n'est pas parfaitement restauré et sa résistance aux adversités est insuffisante.

*Blés de printemps**Essais de 1972.*

Sur les hybrides de printemps mis en essai cette année, seul l'hybride *ms* 8-1 × RP « Horizon », 54-1-1 a surclassé significativement le témoin « César » en deux stations sur trois (tabl. 10). Toutefois cet hybride supérieur à son parent mâle n'était pas supérieur à son parent femelle dans la seule station où la comparaison avait été faite.

TABLEAU 10

Meilleurs hybrides de printemps aux essais de 1972

	Rendements p. 100 de « César » (q/ha) ⁽¹⁾				P. 100 de stérilité ⁽²⁾
	D. B.	L. M.	B. M.	Moyenne	
<i>ms</i> 8-1 × RP « Horizon » ⁴ , 54-1-1	104,9 ⁺	121,5 ⁺	98,3	108,2	15
<i>ms</i> 8-1 × RP « Aronde » ⁴ , 54-5-4	95,9 ⁻	106,7	101,5	101,4	35
<i>ms</i> 8-1 × RP 13-4 ⁴ , 53-4-16	95,5 ⁻	115,6	96,4	102,5	25
<i>ms</i> 8-1 × R 3-1 « Champlein » ⁶ , 40-4	102,1	—	—	—	35
« César »	100,0	100,0	100,0	100,0	0
« Rex »	77,8 ⁻	100,0	73,2 ⁻	83,6	0
« Kolibri »	114,4 ⁺	98,2	94,2	102,3	0
RP « Horizon » ⁴ , 54-1-1	93,6 ⁻	99,6	82,6 ⁻	91,9	5
RP « Aronde » ⁴ , 54-5-4	77,8 ⁻	84,4	96,2	86,1	0
RP 13-4 ⁴ , 53-4-16	79,5 ⁻	70,5 ⁻	85,2	78,4	15
8-1	104,8 ⁺	—	—	—	—
100 =	46,8	27,3	52,5	42,2	—

⁽¹⁾ D. B. = Domaine Brunehaut (80)

L. M. = La Minière (78)

B. M. = La Brosse Montceaux (77)

Les pourcentages affectés d'un + ou d'un — sont significativement différents de 100 (test de Duncan au seuil 0,05).

⁽²⁾ Observations visuelles au moment de la floraison au Domaine Brunehaut (voir AURIAU *et al.*, 1973).

Aucun de ces hybrides n'était parfaitement restauré et tous avaient une taille élevée qui les rendait sensibles à la verse.

Essais de 1973.

Quelques-uns des hybrides essayés cette année ont atteint le rendement du témoin « César », aucun ne l'a surpassé et beaucoup se sont montrés inférieurs. Cependant au Domaine Brunehaut l'hybride *ms* « Horizon » × RP « Aronde »⁴, 53-5-4 a été supérieur à ses deux parents de façon significative. De même la moyenne des hybrides issus de *ms* 8-1 est significativement supérieure à la moyenne des hybrides issus des autres parents femelles.

Les hybrides F₁ entre lignées d'hiver et lignées de printemps avaient été semés au Domaine Brunehaut en split-plots, les grandes parcelles correspondant aux parents de type printemps et les petites parcelles aux parents de type hiver.

Un premier essai réunissait des hybrides issus de quatre lignées mâle-stériles de printemps. Les effets respectifs « mâles » et « femelles » étaient significatifs ainsi que l'interaction entre les deux. Le tableau 11 montre comment se classent les moyennes des rendements des hybrides issus d'un même parent, moyennes qui caractérisent la valeur moyenne en combinaison de ces parents. On voit que

TABLEAU 11

Valeur moyenne en combinaison des lignées parentes d'hybrides
(Essai d'hybrides printemps × hiver, Domaine Brunehaut 1973)

Parents	Moyennes de rendement des hybrides issus d'une lignée parente	Degré de signification des écarts
<i>Femelles</i>		
<i>ms</i> 8-1	58,8	<i>a</i>
<i>ms</i> 13-4	55,5	<i>b</i>
<i>ms</i> « Horizon »	52,9	<i>c</i>
<i>ms</i> « Rex »	51,7	<i>c</i>
<i>Mâles</i>		
RM « Capitole » × « Marchal », 2-17 ...	58,1	<i>a</i>
R 3-1 × « Champlein » ⁶ , 40-4	56,6	<i>ab</i>
RP « Champlein » ⁴ , 54-4-9	56,1	<i>b</i>
RP 81-4 ⁵	50,1	<i>c</i>

ms 8-1 et RM « Capitole » × « Marchal », 2-17 sont les meilleurs parents. Le tableau 12 montre comment se manifeste l'interaction entre les deux groupes de parents. Quatre hybrides sont supérieurs au récurrent de la lignée *ms* 8-1, dont ils sont issus. De même cinq hybrides surpassent le récurrent de *ms* « Horizon », et cinq le récurrent de *ms* 13-4.

Dans un autre essai, les parents femelles étaient de type hiver. Cet essai n'a pas permis de mettre en évidence des différences significatives de valeur moyenne en combinaison entre les parents d'un même groupe. Cependant tous les hybrides issus du parent RP « Aronde »⁴, 54-5-4 sont supérieurs à « Aronde » avec quelques différences entre eux. On doit cependant observer que « Aronde » a produit significativement moins que les trois autres variétés de printemps, dont dérivent les lignées restauratrices.

Certains de ces hybrides entre lignées d'hiver et de printemps ont fourni sans traitement fongicide des rendements égaux à ceux qui ont été obtenus avec beaucoup d'hybrides d'hiver bénéficiant de trois traitements. Mais il en a été de même pour les meilleures variétés de printemps « César » et « Kolibri ».

Quant à la supériorité de certains hybrides par rapport à leur parent de type printemps, on ne peut pas parler d'hétérosis à ce propos ; puisque la comparaison directe avec le parent hiver est impossible. La combinaison de gènes printemps et des caractères de rendement des variétés d'hiver fournit un blé de printemps productif ;

TABLEAU 12

Valeur spécifique en combinaison des lignées parentes
(Essais d'hybrides « printemps × hiver », Domaine Brunehaut 1973)

Parents	Rdts (q/ha)	Signifi- cation des écarts	P. 100 de stérilité ⁽¹⁾	Parents	Rdts (q/ha)	Signifi- cation des écarts	P. 100 de stérilité ⁽¹⁾
<i>ms 8-1</i>				<i>ms « Rex »</i>			
R 3-1 × « Champlein » ⁶ , 40-4	62,4	<i>a</i>	35	RP « Champlein » ⁴ , 54-4-9	53,7	<i>a</i>	40
RM « Capitole » × « Marchal », 2-17	61,8	<i>a</i>	15	R 3-1 × « Champlein » ⁶ , 40-4	53,5	<i>a</i>	50
RP « Champlein » ⁴ , 54-4-9	59,9	<i>a</i>	25	RM « Capitole » × « Marchal », 2-17	53,1	<i>a</i>	35
RP 81-4 ⁵	59,3	<i>a</i>	15	Récurrent (t)	52,6	<i>a</i>	0
Récurrent (t)	58,9	<i>b</i>	5	RP 81-4 ⁵	51,5	<i>a</i>	55
« Palmaress 6 »	50,1	<i>c</i>	50	« Palmaress 6 »	45,5	<i>b</i>	60
<i>ms « Horizon »</i>				<i>ms 13-4</i>			
RM « Capitole » × « Marchal », 2-17	57,8	<i>a</i>	20	RM « Capitole » × « Marchal », 2-17	59,6	<i>a</i>	30
R 3-1 × « Champlein » ⁶ , 40-4	54,5	<i>b</i>	25	RP « Champlein » ⁴ , 54-4-9	56,4	<i>b</i>	55
RP « Champlein » ⁴ , 54-4-9	54,3	<i>b</i>	15	R 3-1 × « Champlein » ⁶ , 40-4	56,3	<i>b</i>	60
RP 81-4 ⁵	52,9	<i>b</i>	30	RP 81-4 ⁵	54,8	<i>bc</i>	45
« Palmaress 6 »	51,6	<i>b</i>	50	« Palmaress 6 »	53,2	<i>bc</i>	65
Récurrent (t)	46,2	<i>c</i>	5	Récurrent (t)	52,6	<i>c</i>	0

⁽¹⁾ Observations visuelles au moment de la floraison (voir AURIAU *et al.*, 1973).

on ne peut pas tirer d'autre conclusion de ces résultats, si ce n'est que tous les parents ne se comportent pas de la même façon. On n'a pas observé beaucoup de verse sur ces hybrides, qui sont cependant assez hauts.

D. — RÉSISTANCE AU FROID

La résistance au froid de certains hybrides de type hiver a été éprouvée en 1971-1972 à la Station de la Chaux des Prés située dans le Jura. Des minima inférieurs à -20°C sont observés chaque année pendant plusieurs semaines dans cette station, et un dispositif spécial évite la protection par couverture de neige. Les taux de survie observés sont reportés au tableau 13. On note que la résistance élevée des lignées 81-4 et 81-12 est partiellement dominante, de même que la sensibilité de « Champlein ». Les autres lignées utilisées comme parents semblent avoir eu beaucoup moins d'influence sur le comportement des hybrides qui en sont issus.

TABLEAU 13

Résultats des épreuves de résistance au froid effectuées à La Chaux des Prés en 1971-1972
(en p. 100 de plantes ayant survécu à l'hiver)

Parents femelles des hybrides	Parents mâles des hybrides				Moyenne des hybrides	Parents femelles	Lignées récurrentes des femelles
	RP « Cham- plein » ⁴ 54-4-9	R 3-1 « Cham- plein » ⁶ 40-4	« Palma- ress 6 »	RP 81-4 ⁵			
ms « Champlein » ..	0,0	0,0	4,5	61,9	16,6	0,0	0,0
ms « Capitole »	42,3	4,5	15,8	80,9	35,9	58,3	87,5
ms « Moisson » ...	16,7	9,5	29,2	42,1	24,1	81,8	92,8
ms « Splendeur » ..	7,4	28,0	25,0	80,0	35,1	86,6	73,1
ms « Magdalena » .	7,7	0,0	9,1	68,4	21,3	57,7	50,0
ms « Joss »	0,0	3,8	—	77,8	—	13,0	3,7
ms 81-12	50,0	63,6	59,2	75,0	61,9	96,0	100,0
Moyennes	17,7	15,6	—	69,4	—	54,1	60,4
Parents mâles	5,5	—	15,4	91,7	—	—	—
Variétés homologues des parents mâles	0,0	0,0	15,4	88,9	20,8	—	—

E. — VALEUR TECHNOLOGIQUE DES HYBRIDES

Les tableaux 14 et 15 donnent les résultats d'analyses effectuées sur certains hybrides récoltés en 1972. Ces résultats montrent que pour les critères de qualité qui ont été employés, la valeur des hybrides est à peu près intermédiaire entre celles

TABLEAU 14

Valeur technologique de blés hybrides d'hiver
(essais de 1971-72)

	Domaine Brunehaut (80)							La Minière (78)							Clermont-Ferrand (63)						
	Alvéogramme (1)				PS (2)	Prot (3)	Zel (4)	Alvéogramme (1)				PS (2)	Prot (3)	Alvéogramme (1)				PS (1)	Prot (2)		
	W	P	G	P/L				W	P	G	P/L			W	P	G	P/L				
<i>ms</i> « Capitole » × RP « Champlein » ⁴ , 54-4-9	81	27	27	0,17	78,9	11,6	26	98	33	27	0,20	74,6	13,1	147	42	25	0,35	76,0	11,8		
<i>ms</i> « Capitole » × R 3-1 « Champlein » ⁶ , 40-4	57	25	26	0,20	78,0	12,0	25	88	32	29	0,15	76,0	13,2	125	42	23	0,40	76,2	11,7		
<i>ms</i> « Capitole » × « Palmaress 6 »	86	30	27	0,20	78,5	11,6	23	96	34	27	0,20	74,8	13,0	134	44	23	0,45	76,4	10,3		
<i>ms</i> « Splendeur » × RP « Champlein », 54-4-9	78	25	28	0,15	79,4	11,2	22	80	30	28	0,15	75,0	12,0	117	37	24	0,30	76,4	10,8		
<i>ms</i> « Champlein » × « Palmaress 6 »	51	29	26	0,20	78,4	11,4	22	68	29	27	0,20	75,2	13,1	103	35	23	0,30	76,4	10,8		
« Capitole »	103	31	28	0,20	78,0	12,0	31	134	37	29	0,20	73,4	13,0	170	46	23	0,45	75,8	10,7		
« Champlein »	47	23	25	0,15	80,0	12,3	19	60	25	28	0,15	75,1	14,0	96	35	24	0,30	76,6	11,2		
<i>ms</i> « Magdalena » × RP « Champlein » ⁴ , 54-4-9 . . .	88	34	26	0,25	71,1	12,6	37	118	41	28	0,25	74,2	13,6	168	53	24	0,45	76,2	10,9		
« Hardi »	117	51	23	0,50	79,1	12,0	38	213	62	26	0,45	75,8	13,3	—	—	—	—	—	—		

(1) Indices mesurés sur la courbe obtenue avec l'Alvéographe Chopin :

W = force boulangère de la pâte après pétrissage (ergs)

P = ténacité de cette pâte

G = élasticité de cette pâte

P/L = rapport figurant l'équilibre entre ténacité et élasticité.

(2) Poids spécifique (kg/hl).

(3) Teneur en protéines (N × 5,7).

(4) Indice de sédimentation de Zélény (c. c.).

des parents. Mais les variétés utilisées pour obtenir ces hybrides avaient été sélectionnées en vue de satisfaire à la boulangerie française traditionnelle (pétrissage lent), ce qui implique une variabilité assez faible, si l'on excepte « Rex » de valeur boulangère plus élevée.

TABLEAU 15

Valeur technologique de certains hybrides de printemps

(Essais réalisés au Domaine Brunehaut en 1972)

	Alvéogramme ⁽¹⁾				PS (²)	Protéines (N × 5,7) (³)	Zeleny (⁴)	Poids de 1 000 grains
	W	P	G	P/L				
8-1	84	32	27	0,20	74,0	12,4	—	—
ms 8-1 × RP « Horizon » ⁴ , 54-1-1	80	30	26	0,20	76,1	12,1	36	36
ms 8-1 × RP « Aronde » ⁴ , 54-5-4	105	34	27	0,25	73,5	12,2	30	35
ms 8-1 × RP 13-4 ⁴	103	41	25	0,35	76,2	12,4	39	35
ms 8-1 × RP « Champlein » ⁴ , 54-4-9	103	38	26	0,30	77,2	12,8	26	42
ms 8-1 × R 3-1 - « Champlein » ⁶ , 40-4	82	30	26	0,25	76,0	12,5	—	—
ms « Rex » × RP « Aronde » ⁴ , 54-5-4	128	45	26	0,35	74,1	13,8	38	39
ms « Rex » × RP « Champlein » ⁴ , 54-4-9	89	34	26	0,25	75,1	13,5	33	39
ms 13-4 × RP « Horizon » ⁴ , 54-1-1	78	36	23	0,30	76,2	12,6	—	—
ms 13-4 × RP « Champlein » ⁴ , 54-4-9	90	40	24	0,35	76,4	12,4	32	40
« Rex »	225	55	30	0,25	72,0	15,5	61	30
RP « Rex » ⁴ , 52-4-4	207	58	27	0,40	73,6	15,3	—	—
« Aronde »	110	41	26	0,30	73,6	13,9	—	—
RP « Aronde » ⁴ , 54-5-4	116	41	27	0,30	70,8	14,3	—	—
« Horizon »	48	28	23	0,25	77,9	13,3	—	—
RP « Horizon » ⁴ , 54-1-1	68	32	26	0,25	77,4	13,1	—	—
13-4	155	67	22	0,75	77,6	12,9	—	—
RP 13-4 ⁴ , 53-4-16	132	61	22	0,65	75,8	14,8	—	—

(¹) Indices mesurés sur la courbe obtenue avec l'Alvéographe Chopin :

W = force boulangère de la pâte après pétrissage (ergs)

P = ténacité de cette pâte

G = élasticité de cette pâte

P/L = rapport figurant l'équilibre entre ténacité et élasticité.

(²) Poids spécifiques (kg/hl).

(³) Teneur en protéines.

(⁴) Indice de sédimentation de Zeleny (c. c.).

Néanmoins, il semble que les lignées tirées de « Champlein » et de « Horizon » aient exercé une influence très défavorable sur la qualité des hybrides qui en étaient issus. Il pourrait donc y avoir des problèmes de valeur en combinaison pour la qualité comme pour le rendement. Il faudrait aussi déterminer si le fait d'utiliser un génotype sous forme mâle-stérile ou restauratrice n'a pas d'influence sur la valeur technologique des hybrides, puisque l'albumen est triploïde. Il apparaît déjà qu'il y a peu d'espoir d'obtenir un hybride qui soit un blé de force, si les deux parents ne le sont pas aussi.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Ces deux années d'essais ont permis d'éprouver la valeur en combinaison de la série des lignées mâle-stériles et restauratrices qui avaient été sélectionnées au cours d'un programme de recherches orienté vers la maîtrise des mécanismes de stérilité mâle et de restauration de la fertilité.

L'utilisation de ce matériel a permis de vérifier l'absence d'effet délétère sur le rendement du cytoplasme de *T. timopheevi*. On a également pu montrer qu'il n'y avait pas d'inconvénient à produire dans le Midi des semences destinées à être utilisées dans le Nord de la France. L'effet « origine des semences » observé par GOUJON et PAQUET (1968) pourrait avoir été causé par des différences de technique de croisement manuel ou encore par des différences d'état sanitaire des semences.

Aucun des hybrides étudiés jusqu'à présent ne paraît suffisamment productif pour que son exploitation commerciale soit envisagée. Les rendements obtenus avec les meilleurs d'entre eux ne dépassent pas ceux des meilleures variétés de type classique.

Cependant quelques hybrides ont surclassé leur meilleur parent ; dans la plupart des cas étudiés cette supériorité semble résulter d'une plus grande régularité des rendements. Une telle régularité constitue un gros avantage économique, il est donc intéressant d'exploiter cette caractéristique.

Parmi les causes responsables des différences de valeur en combinaison des lignées parentes, on peut supposer que les facteurs suivants jouent un rôle important : productivité propre des lignées parentes, présence de gènes de restauration ou de gènes modificateurs, présence de gènes dominants de tolérance aux maladies et aux accidents. La taille courte des parents demi-nains, qui constitue un facteur important de résistance à la verse, est un cas particulier, car il s'agit d'un caractère récessif. Il existe cependant des cas de nanisme partiellement dominants, dont les possibilités d'emploi sont en cours d'étude.

La productivité de certains parents comme « Champlein », « Palmaress 6 », Mexique 50 $\times$ B 21, 16-4-3-3-, RM « Capitole » $\times$ « Marchal », 2-17 et 8-1 semble avoir exercé une forte influence sur la productivité des hybrides qui en sont issus.

La restauration de la fertilité mâle était relativement bonne chez les hybrides issus de lignées isogéniques des variétés « Champlein », « Horizon », « Prestige », « Gaines » ou des lignées 8-1 et RM « Capitole » $\times$ « Marchal », 2-17. Une restauration complète n'a été obtenue qu'en croisant deux parents de ce type. Cependant (tabl. 9, 11), la valeur moyenne en combinaison ne semble liée à la restauration que dans les cas extrêmes, *ms* « Moisson » et « Palmaress 6 » par exemple, qui donnent des hybrides mal restaurés.

Les caractères de résistance aux maladies ne semblent avoir joué qu'un rôle limité dans les comparaisons de valeur en combinaison effectuées en 1973 ; en effet les essais avaient été protégés par des traitements fongicides. La sensibilité à la verse a joué un rôle peut-être plus important mais non déterminant (tabl. 8).

Par conséquent la mise en évidence chez quelques hybrides d'une supériorité par rapport aux lignées parentes, de même que les différences d'aptitude à la combi-

naison observées entre ces parents laissent espérer l'obtention d'hybrides plus productifs. Une condition préalable est d'obtenir une très bonne restauration et un haut niveau de résistance aux adversités. Ce dernier point n'est pas particulier aux hybrides le même problème se pose avec les lignées ; mais les hybrides pourraient en rendre la solution plus aisée.

Une telle amélioration peut être effectuée à partir des meilleures lignées parentes repérées dans ces essais. Cette nouvelle sélection, qui obligera à recourir à des géniteurs d'origines variées, offre l'opportunité d'obtenir la diversification nécessaire du matériel génétique. En particulier quelques observations effectuées récemment à Versailles montrent qu'un niveau d'hétérosis élevé pourrait être obtenu en utilisant des lignées issues de croisements intergénériques.

Il ne faut pas pour autant négliger d'introduire de nouvelles variétés étrangères pour tenter d'en tirer d'autres lignées parentes différentes des lignées françaises.

L'utilisation de la stérilité mâle cytoplasmique et des gènes de restauration offre d'autres possibilités. Il est aisé de constituer des populations composites, où moyennant un choix approprié des plantes récoltées, on obtient à chaque génération un mélange de plantes mâle-stériles et de plantes portant des gènes de restauration à l'état hétérozygote. On réalise donc une modification du système de reproduction du blé, qui est changé en plante allogame. On devrait ainsi obtenir un grand nombre de recombinaisons sans beaucoup de travail.

De telles populations susceptibles de fournir les bonnes lignées restauratrices dont nous avons besoin, sont depuis un an multipliées au Domaine Brunehaut. Or, les résultats de ces deux années d'essais montrent que des lignées restauratrices fixées sur cytoplasme de *T. timopheevi* peuvent constituer des variétés à hauts rendements. Si des hybrides supérieurs à ces lignées pouvaient en être tirés, leur exploitation commerciale serait immédiatement possible, et ils surclasseraient alors toute variété présente sur le marché. La sélection de lignées restauratrices apparaît donc comme un cas particulier de la sélection classique susceptible d'en augmenter l'efficacité.

Toutefois la recherche de combinaisons hétérotiques par tâtonnements est peu satisfaisante. L'utilisation de testcrosses, comme dans les essais du printemps 1973 est certainement préférable. Mais les travaux de SARKISSIAN et SRIVASTAVA (1969) sur la complémentation mitochondriale pourraient ouvrir la voie à une technique plus rapide de recherche des combinaisons hétérotiques.

D'après McDANIEL (1973) la corrélation entre complémentation mitochondriale et gain de rendement est moins bonne chez le Blé que chez l'Orge ; cet auteur a cependant obtenu 70 p. 100 de cas concordants chez le Blé. Ces recherches constituent de toute façon une approche importante à la compréhension des phénomènes en cause.

Mais un autre aspect mérite de retenir l'attention. Certains hybrides manifestent leur vigueur par un développement végétatif accru, leur tallage est plus fort, et la taille des feuilles et des tiges plus grande. Or d'après BINGHAM (1971), chez les variétés de blé européennes, la surface photopériodique au moment de l'épiaison est toujours supérieure aux besoins. Et d'après le même auteur, un fort tallage herbacé nuit au développement de l'épi et réduit sa capacité d'emmagasiner de la matière sèche sous forme de grain. C'est peut-être une explication aux cas non concordants observés par McDANIEL. Cela attire aussi l'attention sur la nécessité de chercher quelles doivent être les caractéristiques des parents pour que la vigueur hybride se traduise par un gain de rendement.

Ces deux années d'essais ont donc été fort utiles, même si aucun hybride exploitable n'en est sorti. On a pu repérer de cette façon les lignées parentes les plus intéressantes pour la poursuite des recherches. Chose plus importante encore, on a pu dégager de nouvelles orientations de recherche. Il reste encore du travail à faire avant de disposer des lignées parentes réunissant les conditions nécessaires à l'obtention de très bons hybrides. L'important est que ce travail trouvera toujours un débouché ; que ce soient les variétés classiques ou les variétés hybrides qui l'emportent, c'est toujours un gain des rendements qui en résultera.

Reçu pour publication en mars 1974.

REMERCIEMENTS

Que soient ici remerciés M^{lle} Jacqueline PHILOUZE et M. R. ÉCOCHARD qui ont accepté de lire le manuscrit de cet article et dont les suggestions ont été précieuses.

Ma profonde gratitude s'adresse aussi à tous ceux, trop nombreux pour être cités, qui ont collaboré à ce travail en réalisant des essais ou en effectuant les analyses.

SUMMARY

RESEARCH ON HYBRID VIGOR IN THE WHEAT PLANT.

I. — RESULTS OF 1971-1972 AND 1972-1973 TRIALS

Large improvements have been obtained from the first step in hybrid wheats research. But it is still too early to give any conclusion on the future of this breeding method. In France, male fertility restoration and seed production have been the first objectives in hybrid wheats field. The male sterile and restorer lines produced in this step were almost all isogenic of french cultivars. By crossing them, hybrids were obtained and grown in yield trials during the 1971-1972 and 1972-1973 seasons.

Some hybrids have outyielded their best parent but not the best commercial varieties. Clear cut differences for combining value between the parental lines, were observed. The amount of restoration of the male sterility was partially responsible for these differences. But the yielding ability of the parental lines was also an important factor.

The discussion shows that it may be possible to obtain better hybrids and also how the research could be planed in the future. Finally it appears that there is no opposition between conventional breeding methods and the hybrid way. Any hybrid wheat breeding program is able to produce good lines that can be used as varieties, and possibly hybrids too, that can outyield these lines. But these hybrids will be immediatly available for commercial use.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ALLAN R. E. *et al.*, 1974. *Ann. Wheat Newsletter*, **20**, 188-189.
 AURIAU P., PLUCHARD P., de BUYSER J., 1973. Hérité de la restauration de la fertilité mâle chez les blés hybrides. I. Résultats préliminaires. *Ann. Amélior. Plantes*, **23** (4), 315-332.
 BAIER W. H., 1973. Heterosis and competition in different characters of wheat (*Triticum aestivum* L.). *4th Intern. Wheat. Genet. Symp.*, Columbia, 19-25.

- BINGHAM J., 1971. Physiological objectives in breeding for grain yield in wheat. *Proc. 6th Congr. Eucarpia*, Cambridge, 15-29.
- BITZER M. J. *et al.*, 1971. Hybrid vigor and gene action in a six-parent diallel cross of soft winter Wheat. *Can. J. Genet. Cytol.*, **13** (1), 131-137.
- GLOVER C. R., SMITH E. L., 1969. Combining ability of selected male sterile and restorer wheat lines. *Agron. Abstr.*, Madison, p. 7.
- GOUJON C., PAQUET J., 1968. Contribution à l'étude de la vigueur hybride chez le Blé tendre. Essais de rendements en semis d'automne réalisés en 1965-66 et 1966-67. *Ann. Amélior. Plantes*, **18** (3), 223-235.
- HAYWARD C. F. *et al.*, 1972. *Ann. Wheat Newsletter*, **18**, 80-81.
- MCDANIEL R. G., 1973. Mitochondrial complementation : a plant-breeding tool for estimating combining ability of wheats and *Triticale*. *Proc. 4th International Wheat Genetics Symposium*, Columbia, Missouri, 6-11 August 1973, 541-546.
- PETERSON C. J. *et al.*, 1969. Maximizing heterosis in winter wheat. *Agron. Abstr. Madison*, p. 15.
- PLANCHON C., 1973. *Productivité, hétérosis et photosynthèse chez le Blé tendre (Triticum aestivum L.)*. Thèse Univ. Paul Sabatier, Toulouse n° 543, 130 p.
- PUHAL'SKIĬ A. V., MAKSIMOV I. L., 1970. The importance of the conditions of growing parental forms and first generation hybrids in studying the effect of heterosis in winter wheat (en russe). *Vestn. sel' skhoz. Nauk*, **6**, 98-105.
- RAI R. K. *et al.*, 1970. Studies with hybrid wheat in Ontario. *Can. J. Plant. Sci.*, **50** (4), 485-491.
- SAGE G. C., HOBSON G. E., 1973. The possible use of mitochondrial complementation as an indicator of yield heterosis in breeding hybrid wheat. *Euphytica*, **22** (1), 61-69.
- SARKISSIAN I. V., SRIVASTAVA H. K., 1969. High efficiency, heterosis, and homeostasis in mitochondria of Wheat. *Proc. nat. Acad. Sci., U. S. A.*, **63**, 302-309.
- VARENITSA E. T. *et al.*, 1971. Heterosis in winter wheat under different sowing norms (en russe). *Vest. Sel'skokh. Nauki*, **16** (9), 37-45.
- WALTON P. D., 1972. Factor analysis of yield in spring Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Crop. Sci.*, **12** (6), 731-733.
- WILSON J. A. *et al.*, 1972. *Ann. Wheat Newsletter.*, **18**, 81-82.
-

LA MULTIPLICATION CLONALE DE L'ASPERGE (*ASPARAGUS OFFICINALIS* L.) PAR CULTURE *IN VITRO*: SON UTILISATION EN SÉLECTION

Claire DORÉ

Station de Génétique et d'Amélioration des Plantes,
Centre national de Recherches agronomiques, I. N. R. A.,
78000 Versailles

RÉSUMÉ

L'augmentation du rendement, objectif essentiel dans les programmes d'amélioration de l'Asperge, peut être réalisée en créant des hybrides (hybrides dits simples et hybrides F_1).

Le bouturage *in vitro* et la culture de méristèmes concourent à l'efficacité de ces programmes en permettant la multiplication clonale des parents des hybrides.

Le bouturage *in vitro* mis au point sur des tiges néoformées à partir de cals d'origine pollinique a été appliqué à des tiges d'origines et d'âges divers. Par bouturage on parvient à des plantes possédant une griffe *in vitro* ce qui est favorable à la reprise en terre des plantes.

La culture de méristèmes est utilisée pour multiplier les parents des hybrides dits simples. Les plantes obtenues *in vitro* ne possèdent pas de griffe à ce stade. Pour que la reprise en terre soit effective, les plantes doivent alors initier une griffe.

INTRODUCTION

Un des objectifs essentiels de l'amélioration de l'Asperge est l'augmentation du rendement. La réalisation de cet objectif est rendue difficile par la biologie particulière de cette plante.

L'Asperge est une espèce dioïque, pérenne et à faible taux de multiplication végétative. La dioécie est l'un des facteurs importants de l'hétérogénéité à l'intérieur des plantations composées de griffes obtenues par semis de graines (BANNEROT *et al.*, 1969). La pérennité de la plante est assurée par une griffe comportant un rhizome ; les bourgeons souterrains et les racines sont répartis en plusieurs pôles.

Le développement des plantes est relativement lent. La floraison d'une plante n'est induite que plus d'un an après son semis. La pleine exploitation d'une plantation ne commence que quatre ans après le semis (THÉVENIN, 1967).

L'augmentation du rendement peut être obtenue en exploitant la vigueur hybride entre deux individus hétérozygotes (création d'hybrides dits simples) ou mieux encore entre deux individus homozygotes (création d'hybrides F_1).

— *Création d'hybrides dits simples* (ou hybrides de clones) : l'observation, au Laboratoire d'Amélioration de l'Asperge, de la descendance de croisements, entre des géniteurs connus, a permis de repérer la supériorité notable de certains de ces hybrides (dits simples) par rapport aux populations commerciales (THÉVENIN, 1967 *a*, 1971). Il s'écoule 5 ans entre le croisement lui-même et la reconnaissance de la supériorité d'une plante en tant que géniteur. Il s'agit alors d'une plante âgée.

— *Création d'hybrides F_1* : la culture d'anthères *in vitro* est une des voies possibles pour parvenir à des plantes homozygotes d'Asperge (THÉVENIN, 1974 ; DORÉ, 1975). Le matériel végétal obtenu se présente sous forme de jeunes tiges régénérées à partir de cals. Par cette méthode on obtient en particulier des plantes appelées super-mâles homozygotes pour le caractère mâle, très intéressantes en tant que géniteurs (SNEEP, 1953 ; THÉVENIN, 1967 *b*), ne pouvant être multipliées que végétativement.

Pour ces deux types d'hybrides, la production de graines impose de cloner les parents. Il faut envisager de créer des clones de quelques centaines d'individus chacun.

La multiplication végétative par simple repiquage en terre d'un fragment de plante ne donne aucun résultat. L'éclatement de la griffe est la seule méthode en conditions horticoles ⁽¹⁾. Elle permet d'obtenir en moyenne deux à trois plantes viables par an (THÉVENIN, 1967 *a*), mais ne permet pas, dans un délai raisonnable, de constituer un champ de production de graines.

En conséquence, il a été impossible d'utiliser directement les hybrides dits simples entre deux plantes. Il a fallu recourir provisoirement à des hybrides dits doubles, faisant intervenir les quatre parents de deux bons hybrides, de telle sorte que les effets d'hétérosis s'expriment au niveau de la production (THÉVENIN, 1973).

Alors que la multiplication végétative de l'Asperge, en conditions horticoles, demeurerait très limitée, les techniques de cultures *in vitro* ont permis d'envisager de nouvelles possibilités.

De nombreuses méthodes dont nous faisons une rapide revue, ont été employées. Il s'agit de :

- bouturage de fragments de plantes (LOO, 1946 ; GALSTON, 1948 ; GORTER, 1965 ; ANDREASSEN et ELLISSON, 1967 ; YANG et CLORE, 1973, 1974 ; AYNSLEY, 1973) ;
- induction d'un cal, à partir de portions de tiges ou de cladodes et néoformation d'embryons (TAKATORI *et al.*, 1968 ; YAKUWA *et al.*, 1971 ; HARADA, 1973) ;
- culture de méristèmes (BOURGIN *et al.*, 1973 ; TENDILLE, 1973 ; HASEGAWA *et al.*, 1973 ; RIVIÈRE et MULLER, 1974) ;
- culture de cellules isolées (JULLIEN, 1973) ;
- culture de protoplastes (BUI DANG HA, 1973).

Parmi ces méthodes deux ont retenu notre attention :

- le bouturage *in vitro*,
- la culture de méristèmes.

⁽¹⁾ Il faut signaler toutefois les possibilités de bouturage en conditions horticoles récemment signalées par AYNSLEY et MARSTON (1973) et de marcottage en terre décrites par YANG et CLORE (1973).

Le bouturage *in vitro* permet notamment d'obtenir et de multiplier les géniteurs homozygotes issus de culture d'anthers *in vitro* et la culture de méristèmes permet plus particulièrement de multiplier les parents des hybrides simples.

I. — LE BOUTURAGE *IN VITRO*

La méthode a été mise au point sur des tiges régénérées à partir de cals issus de pollen, puis appliquée à des tiges d'origines et d'âges divers.

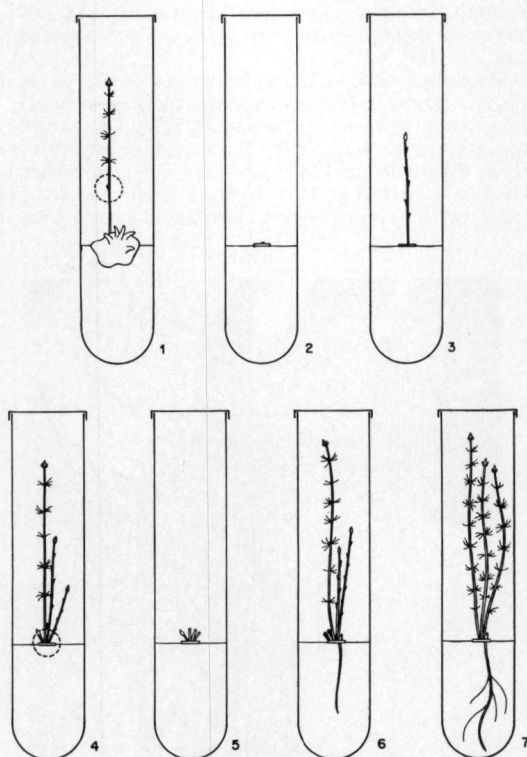


FIG. 1. — Différentes étapes du bouturage *in vitro* de tiges néoformées à partir de cals d'origine pollinique :

1. Cal d'origine pollinique régénérant une tige ;
 2. Portion de tige comportant un nœud, placée horizontalement sur le milieu T_0 ;
 3. Émission d'une nouvelle tige ;
 4. Émission et développement de plusieurs tiges ;
 5. Sectionnement et repiquage de la base de la bouture initiale ;
 6. Émission et développement de nouvelles tiges et apparition d'un bourgeon dormant, suivie de l'initiation d'une racine ;
 7. Plante complète possédant une griffe, prête à être repiquée en terre.
- Si la racine n'est pas initiée en 6 on retourne en 4.

A. — Mise au point sur des tiges néoformées à partir d'un cal d'origine pollinique

La culture d'anthers *in vitro* permet d'obtenir des cals d'origine pollinique. La morphogenèse des cals donnant essentiellement des tiges (PELLETIER *et al.*, 1972),

il s'est avéré nécessaire de trouver une méthode pour parvenir à des plantes complètes, repiquables en terre (DORÉ, 1973, 1974).

Le niveau de ploïdie des tiges néoformées est n , $2n$, $3n$, $4n$ ou $5n$ suivant les cals. Il y a quelques rares cas de tiges mixoploïdes.

1. Induction de la griffe in vitro.

Parmi les différentes expériences de bouturage effectuées sur les tiges (DORÉ, 1975), l'enracinement a été obtenu en procédant de la façon suivante (fig. 1) :

Les boutures sont des portions de tiges sans cladodes, situées près de la base. Chacune comporte un nœud. Les boutures sont placées horizontalement dans des tubes de culture sur le milieu T_0 (caractérisé par l'absence de substances de croissance). Les tubes sont entreposés dans une salle de culture (voir Annexe).

Les boutures réagissent rapidement en initiant des tiges au niveau du nœud. A ce stade, elles ne donnent jamais de racine. Lorsque la croissance des tiges est achevée, on les sectionne pour repiquer la base de la bouture initiale sur du milieu T_0 neuf. De nouvelles tiges se développent tandis qu'un bourgeon dormant, recouvert d'écailles et trapu, apparaît dans 20 p. 100 des cas. L'initiation de ce bourgeon est suivie par l'émission d'une racine primaire.

Il faut environ de deux à quatre mois pour obtenir l'enracinement. En répétant le sectionnement sur les boutures non racinées, on obtient à nouveau 20 p. 100 d'enracinement.

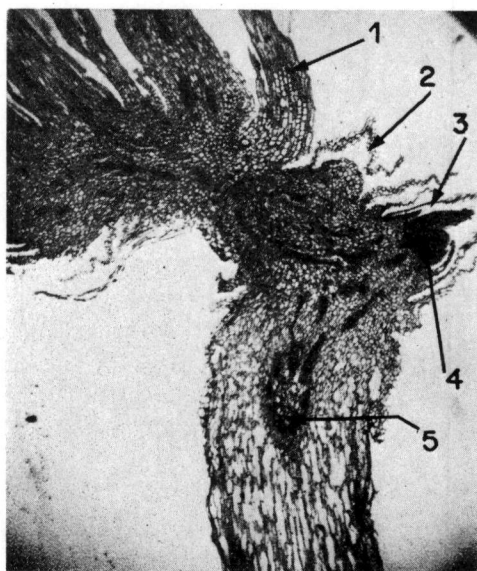


FIG. 2. — Coupe cytotologique au niveau de la griffe d'une plante obtenue par bouturage in vitro d'une tige néoformée à partir d'un cal d'origine pollinique ($\times 30$)

Coloration hématoxyline ferrique

- | | |
|------------------|-----------------------------|
| 1 : tiges ; | 4 : bourgeon de la griffe ; |
| 2 : jeune tige ; | 5 : racine primaire. |
| 3 : écaille ; | |

La racine primaire, de type pivotant est d'un blanc nacré. Elle s'allonge rapidement et différencie latéralement des racines secondaires. Elle est en continuité avec le bourgeon entouré d'écailles comme le montre une coupe cytotologique pratiquée au niveau du collet (fig. 2). A l'aisselle du bourgeon et dans une direction donnée, on

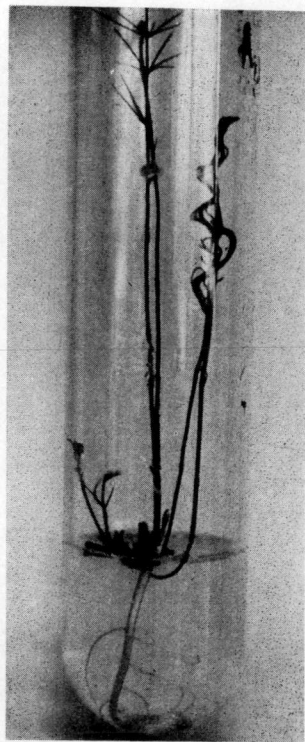


FIG. 3. — Plante obtenue par bouturage in vitro d'une tige néoformée à partir d'un cal d'origine pollinique

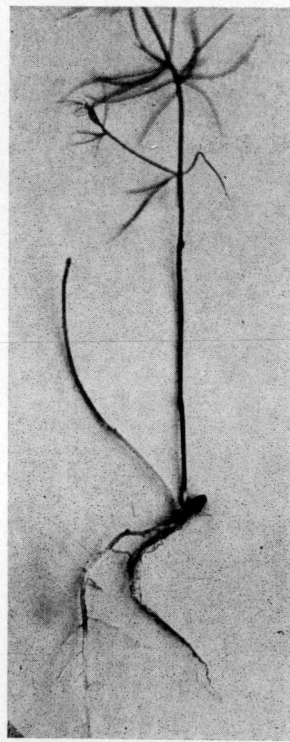


FIG. 4. — Plantule issue de graine cultivée en terre

remarque d'autres bourgeons plus jeunes. L'ensemble bourgeon-racine n'est autre que l'amorce de la griffe.

Le bouturage suivi de sectionnements permet donc d'obtenir, *in vitro*, une jeune plante tout à fait comparable à une plantule issue de graine, puisqu'elles sont caractérisées l'une et l'autre par la présence d'une griffe (fig. 3 et 4).

Nous avons tenté d'augmenter la fréquence d'enracinement. Nous n'y sommes pas parvenue jusqu'ici de façon sensible. Les expériences effectuées nous ont permis de faire les remarques suivantes :

— à l'obscurité pendant toute la durée de l'expérience, aucune racine n'apparaît ;
— sous un éclairage de 10 000 lux, l'enracinement précède le développement des tiges ;

— la présence d'une auxine telle que l'ANA ⁽¹⁾, à la dose de 1 mg par litre, provoque l'apparition d'un cal au niveau du nœud de la bouture initiale. La racine formée est massive, s'allonge peu et lentement. Un repiquage sur le milieu T₀ permet l'allongement de la racine ;

— l'apparition d'une racine dite aérienne est rare. Il s'agit d'une racine initiée hors du milieu de culture, au niveau d'un nœud d'une tige néoformée. La tige néoformée a achevé son développement et son extrémité apicale est desséchée. Le fait de sectionner les tiges néoformées suivant la méthode qui vient d'être décrite a un effet comparable au dessèchement de l'extrémité apicale.

L'apparition de la griffe semble donc nécessairement liée à la suppression préalable de la dominance apicale.

TABLEAU I

Influence du stade de développement in vitro de la griffe sur la reprise en terre des plantes obtenues par bouturage de tiges néoformées à partir de cals d'origine pollinique

Type de racine et stade de développement de la griffe	Nbre de plantes repiquées ⁽¹⁾	Nbre de plantes effectivement reprises en terre
Pas de racine, ou racines grêles de type adventif (pas de griffe)	10	0
Racine primaire très jeune, pas de racine secondaire (la griffe vient d'être initiée)	22	3
Racines primaires et secondaires bien développées (la griffe est pré- sente et fonctionne)	27	20

⁽¹⁾ Les effectifs sont faibles car il s'agit d'une expérience préliminaire sur les premières plantes obtenues par bouturage.

⁽¹⁾ ANA = acide naphtalène acétique.

2. Repiquage en terre.

Le repiquage en terre de la jeune plante est une étape importante à franchir puisqu'elle passe brusquement des conditions aseptiques aux conditions horticoles. Ce repiquage doit être suivi par la reprise de la plante. Une plante effectivement reprise en terre sera capable de pousser normalement en serre puis au champ.

Les conditions favorables à la croissance de l'Asperge, réalisées dans une enceinte climatisée (voir Annexe), ont servi de conditions initiales pour le repiquage en terre des jeunes plantes.

Les résultats d'expériences préliminaires effectuées sur un faible effectif (il s'agit des premières plantes obtenues par bouturage) ont montré que le stade de développement de la griffe est un facteur essentiel de la reprise en terre (tabl. 1) :

- les racines secondaires doivent être présentes et bien développées,
- la griffe doit non seulement être en place, mais également déjà fonctionner *in vitro*.

L'humidité relative est un autre facteur de la reprise en terre. Le dessèchement total des tiges peu après le repiquage en terre est très défavorable. L'ouverture des tubes de culture dans l'enceinte climatisée la veille du repiquage et une humidité

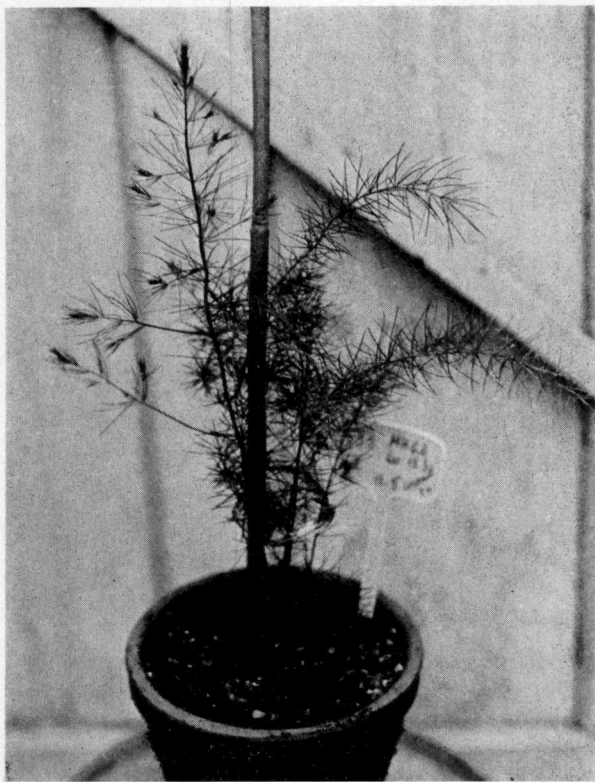


FIG. 5. — Jeune plante obtenue par bouturage *in vitro* de tige néoformée à partir d'un cal d'origine pollinique, deux mois après repiquage en terre. La plante mesure environ 40 cm

relative maintenue élevée (80 à 85 p. 100) dès la veille et jusqu'au lendemain du repiquage, permettent d'éviter le dessèchement des tiges.

Lorsque la griffe fonctionne et que l'humidité relative est élevée (pendant le repiquage), on assiste quelques heures après le repiquage à un très léger flétrissement des tiges. Trois jours après, de nouvelles tiges apparaissent. Elles sont dressées ; les entre-nœuds sont longs et les cladodes groupés en bouquets aux nœuds supérieurs.

Il est nécessaire d'assurer à la plante les conditions de l'enceinte climatisée pendant deux mois, c'est-à-dire jusqu'à ce que la plante soit tout à fait reprise. A ce stade elle est vigoureuse et mesure environ 40 cm (fig. 5). Au-delà de cette période, son maintien dans une chambre climatisée n'est plus indispensable pour assurer une croissance normale.

Les conditions de repiquage assurant la reprise en terre ultérieure ont été appliquées aux différentes plantes.

Les résultats obtenus (tabl. 2) montrent l'influence du niveau de ploïdie et du génotype de la plante obtenue.

TABLEAU 2

Plantes effectivement reprises en terre provenant de bouturage in vitro de tiges néoformées à partir de cals d'origine pollinique

Cals ayant régénéré des tiges ⁽¹⁾	Nombre de plantes repiquées en terre issues d'un même cal	Nombre de plantes effectivement reprises après le repiquage en terre	Pourcentage de reprise en terre après 6 mois
n haploïde { F ₂₈	51	31	61
$2n$ diploïde { B ₈ C ₁₁ E ₁ F ₁ F ₃ F ₇ F ₁₁₁ ⁽²⁾ P ₁	2 1 26 16 1 3 52 1 } 102	2 1 25 14 1 2 31 1 } 78	76
$3n$ triploïde { C ₈ C ₁₃ F ₂	38 4 33 } 75	22 4 31 } 57	76
$> 3n$ et mixoploïde { C ₁ C ₂ C ₆ C ₇ C ₉ C ₁₀ F ₄	2 7 20 4 58 6 11 } 108	1 5 10 1 23 6 7 } 53	49

Les différences dans le nombre de plantes repiquées en terre ne proviennent pas d'une aptitude différente à l'enracinement mais du fait que certains cals ont été obtenus plus récemment que d'autres.

⁽¹⁾ La lettre désigne la plante d'origine, dont on a cultivé le pollen.

⁽²⁾ Les plantes issues de ce cal se sont révélées stériles.

Certains génotypes diploïdes fertiles atteignent 90 p. 100 de reprise en terre. Les plantes de niveau de ploïdie élevé, ou même les plantes mixoploïdes (au-delà de $3n$ chromosomes) ne reprennent que dans 50 p. 100 des cas environ. Les plantes de niveau de ploïdie élevé présentent ultérieurement une vigueur et une fertilité faibles (fig. 6).



FIG. 6. — *Vigueur des plantes en fonction du niveau de ploïdie.*
De droite à gauche : plantes à n , $2n$, $3n$, $4n$ et $5n-6n$

Le milieu horticole exerce une pression sélective qui va dans le même sens que la sélection ultérieure pratiquée sur la plante.

Il est possible de parvenir à un grand nombre de plantes, une tige ayant plusieurs nœuds sans cladodes, qui donnent chacun une à trois tiges. On peut utiliser de la même façon les deux ou trois nœuds de chacune de ces nouvelles tiges lorsqu'on les rabat pour repiquer la base de la bouture initiale. Le nombre de boutures suit une loi exponentielle, mais est évidemment vite limité par des contingences pratiques.

B. — *Tentative d'application du bouturage in vitro pour le clonage des géniteurs*

Étant donné l'intérêt que présente cette méthode pour le clonage des géniteurs nous avons cherché à l'appliquer à des tiges d'origines diverses.

1. *Travaux effectués dans d'autres laboratoires.*

De nombreux travaux ont été effectués sur le bouturage de diverses parties de la plante. Des boutures sont placées sur différents milieux contenant des substances de croissance.

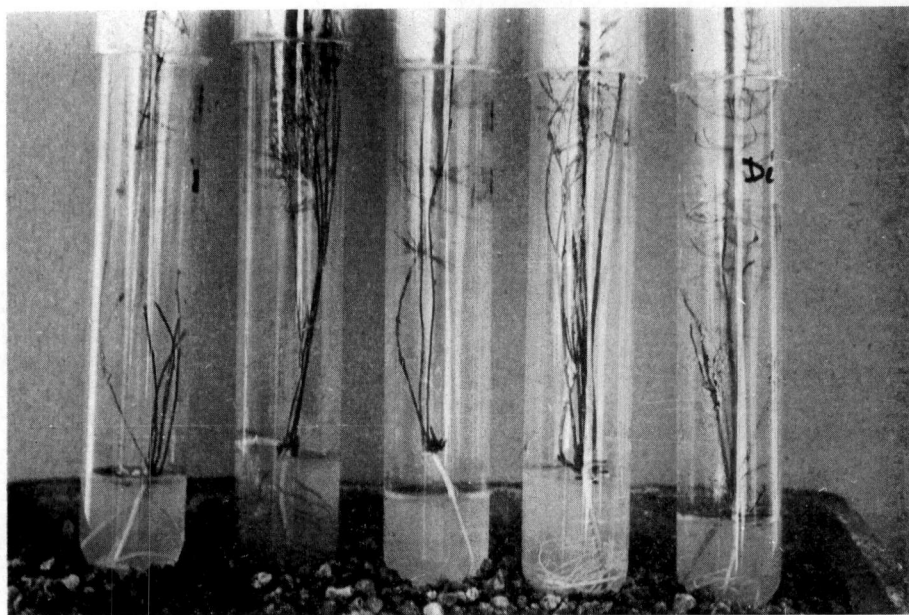


FIG. 7. — Bouturage in vitro de tiges d'origines et d'âges divers :

- a) tige néoformée à partir d'un cal d'origine pollinique,
- b) tige provenant d'une graine cultivée *in vitro*,
- c) tige provenant d'une graine cultivée en terre,
- d) tige d'une plante âgée de cinq ans,
- e) tige provenant de culture de méristèmes.

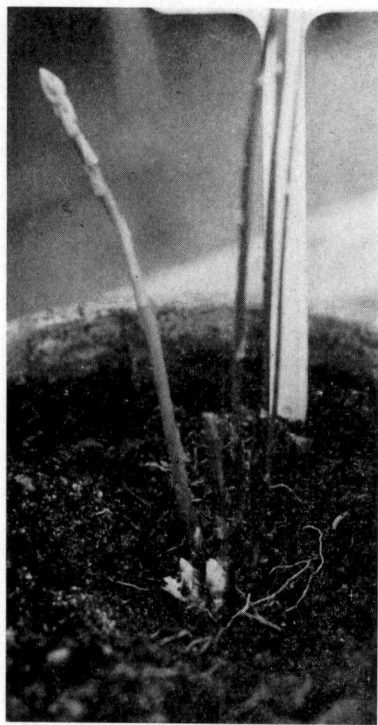


FIG. 8. — Griffe d'une plante, obtenue par bouturage in vitro d'une tige issue du développement d'un méristème, environ trois mois après le repiquage en terre

Ainsi C. J. GORTER (1965) utilise des extrémités de jeunes tiges issues de graines. Elle induit un cal, puis la néoformation de racines.

ANDREASSEN et ELLISSON (1967) prélèvent des portions de tiges adultes en cours d'élongation. L'enracinement qui est obtenu sans sectionner les tiges, n'est pas suivi de la reprise en terre des plantes.

YANG et CLORE (1973, 1974) utilisent des portions de tiges adultes. Les tiges émises sont recoupées et repiquées sur du milieu neuf. L'effet du sectionnement et la présence de substances de croissance notamment influent sur la vitesse et la fréquence d'enracinement. L'enracinement obtenu est suivi de la reprise en terre des plantes.

2. Travaux personnels.

Afin de tenter de mieux comprendre le phénomène et de l'appliquer au clonage de géniteurs, nous avons pratiqué la méthode décrite pour les tiges provenant de culture d'anthères, sur des tiges ayant les caractéristiques suivantes :

- tiges de plantes de deux mois issues de graines cultivées *in vitro* ou en terre ;
- tige d'une plante repiquée en terre depuis deux mois obtenue par bouturage d'une tige néoformée à partir d'un cal d'origine pollinique ;
- tige issue du développement d'un méristème ;
- tige, âgée de 0 à 1 an, d'une plante de cinq ans.

(Il est bien entendu que le niveau d'intérêt n'est pas le même suivant les cas.)

On obtient dans tous les cas une griffe qui est composée d'un bourgeon dormant en continuité avec une racine primaire (fig. 7). Toutefois des différences importantes se manifestent dans le nombre de repiquages et de sectionnements nécessaires pour initier la griffe.

La jeunesse de la tige et sa finesse sont des atouts favorables à l'obtention rapide de la griffe. Plus la plante est âgée et plus il est nécessaire de pratiquer des repiquages et des sectionnements pour induire la griffe.

Pour les plantes âgées de cinq ans, seuls les nœuds situés à la base de la tige principale (environ les 10 premiers) réagissent favorablement mais la fréquence d'enracinement est de 5 p. 100. L'enracinement nécessite 4 à 6 repiquages.

Le nombre de plantes obtenues est indépendant du stade de développement de la tige principale.

Faute de place, les plantes n'ont pas toutes été repiquées en terre mais leur aspect était tout à fait comparable à celui des plantes qui reprennent normalement (fig. 7). Les plantes bouturées à partir de tiges issues du développement de méristèmes ont toutes repris en terre (fig. 8).

Quelles que soient leurs origines et lorsque la reprise en terre est assurée, on peut fragmenter toutes les plantes obtenues, en deux ou trois exemplaires en les maintenant dans l'enceinte climatisée.

C. — Bilan du bouturage *in vitro*

Nos résultats montrent que le bouturage *in vitro* (à condition d'effectuer un ou plusieurs sectionnements des tiges nouvellement émises) permet de multiplier végétativement l'Asperge, quel que soit l'âge de la plante et quelle que soit l'origine de la tige prélevée.

La jeune plante obtenue *in vitro* est caractérisée par la présence d'une griffe qui permet la reprise en terre dans un délai rapide.

L'absence de substances de croissance dans le milieu évite la formation d'un cal au niveau du nœud de la bouture initiale et permet le développement normal de la griffe.

Le nombre chromosomique se maintient à travers la culture *in vitro*.

Il suffit d'un seul nœud sur une tige pour pouvoir constituer un « stock » de matériel végétal qui se renouvelle à chaque sectionnement et repiquage.

Si la fréquence d'enracinement est faible au départ, le nombre de plantes pouvant être finalement obtenues peut très rapidement croître par multiplication du matériel végétal lors des repiquages. Cet éclatement du « stock » permet un clonage intensif.

Grâce au bouturage *in vitro* il nous est notamment possible d'exploiter une nouvelle source de plantes homozygotes, puis de cloner celles qui se révèlent être des géniteurs intéressants.

II. — LA CULTURE DE MÉRISTÈMES

Pour cloner des plantes âgées, on peut avoir recours à la culture de méristèmes. Les méristèmes sont des massifs de cellules jeunes qui présentent, notamment *in vitro*, des capacités organogènes remarquables.

A. — Travaux effectués dans d'autres laboratoires

Les travaux de BOURGIN *et al.* (1971) et MULLER *et al.* (1973) montrent qu'une forte concentration en ANA, nécessaire pour l'initiation des racines, est en même temps inhibitrice de leur développement ultérieur. Il est donc nécessaire d'effectuer un repiquage après l'initiation.

Les travaux de TENDILLE (1973) et TENDILLE et LECERF (1974) démontrent que le développement favorable du méristème jusqu'à la plantule est directement lié à la nutrition minérale. Le repiquage en terre des plantes issues de méristèmes est une étape difficile à franchir, influencée par la nutrition minérale et le thermopéridisme.

Les travaux de MURASHIGE *et al.* (1972) et HASEGAWA (1973) montrent en particulier que le succès de la transplantation en terre nécessite un repiquage préalable sur milieu sans ANA, sous un très fort éclaircissement.

Il faut aussi signaler la culture de méristèmes prélevés sur des bourgeons souterrains de l'extrémité de la griffe (MULLER *et al.*, 1973 ; RIVIÈRE et MULLER, 1974). La reprise en terre est dans ce cas beaucoup plus facile, mais la plante-mère est endommagée.

B. — Travaux personnels :

multiplication clonale des parents des hybrides dits simples

Faisant suite aux travaux de TENDILLE (1973) nous avons appliqué la culture de méristèmes à la multiplication clonale des parents des hybrides dits simples.

1. *Obtention de plantes à partir de méristèmes.*

Les méristèmes sont prélevés sur des turions de 5 cm, de plantes âgées de 5 à 10 ans. L'extrémité d'un turion est composée d'écaillés imbriquées. Sous chaque

écaille les méristèmes sont disposés en pyramide. Un turion renferme de 80 à 200 méristèmes environ, suivant sa taille. Les méristèmes, mesurant environ 0,5 mm, sont prélevés à l'aide de la loupe binoculaire et mis en culture sur le milieu CM₁ (voir Annexe) qui comprend en particulier la solution minérale définie par TENDILLE (1973) concentrée 1,66 fois, la solution de vitamines B décrite par MOREL et WETMORE (1951) et de l'ANA à la dose de 1 mg par litre.

Après trois semaines de culture les méristèmes atteignent environ 5 mm de diamètre. Beaucoup d'entre eux présentent déjà à ce stade des initia de racines. Ils sont alors repiqués sur le milieu CM₁ sans ANA.

Trois semaines après plus de 90 p. 100 des méristèmes sont enracinés (tabl. 3). Les racines émises à partir d'un méristème sont nombreuses (1 à 7) ; certaines sont fourchues et en général ne présentent pas de ramifications secondaires. Le développement des tiges (1 à 5) intervient ultérieurement, il est faible. Parfois même aucune tige ne se développe. Les cladodes sont répartis le long de la tige. Il n'y a pas d'initiation de griffe.

TABLEAU 3

Enracinement des méristèmes après trois semaines sur le milieu de culture CM₁ puis quatre semaines sur CM₁ sans ANA

Géniteurs	Nombre de méristèmes mis en culture	Nombre de méristèmes enracinés	Pourcentage d'enracinement
A	100	97	97
D	148	147	99
G	48	45	93
H	40	39	97
J	135	135	100
K	93	90	96

N. B. : On appelle méristème enraciné un méristème ayant initié au moins une racine.

La jeune plante obtenue à partir du développement d'un méristème *in vitro* est donc très différente d'une plantule issue de graine, ou d'une jeune plante au même stade obtenue par bouturage.

Parmi 96 plantes issues de méristèmes et repiquées en terre, dans les conditions favorables à la reprise des plantes provenant de bouturage, nous avons obtenu 22 plantes effectivement reprises après un séjour de 2 à 7 mois dans l'enceinte climatisée.

2. Adaptation de la méthode à une production intensive de plantes.

Pour parvenir à un grand nombre de plantes en utilisant cette méthode, il faut remédier à deux inconvénients importants :

- la grande variabilité de réponses des méristèmes d'un même turion,
- la difficulté de reprise en terre des plantes.

a) *Variabilité de réponses des méristèmes d'un même turion.*

Dès la fin de la première semaine de culture, on remarque une grande hétérogénéité dans la forme et la taille des méristèmes d'un même turion. Cette hétérogénéité se traduit ensuite par des différences dans le nombre, la morphologie et la vitesse de croissance des racines et des tiges.

Différentes expériences montrent que la vitesse de développement et la morphologie de la jeune plante obtenue, sont indépendantes de la disposition du méristème sous l'écaille (fig. 9) et de la position de l'écaille le long du turion.

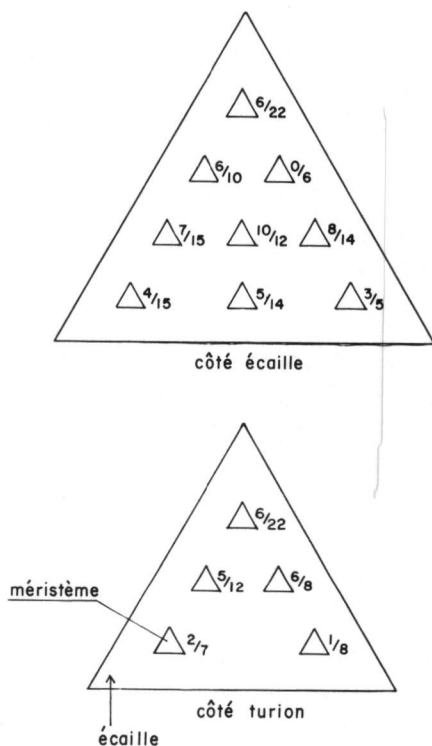


FIG. 9. — Influence de la disposition des méristèmes sous l'écaille sur le développement ultérieur des plantes in vitro

L'expérience a été effectuée sur un turion présentant 22 écailles imbriquées. Sous chaque écaille on a prélevé des méristèmes situés dans 13 dispositions différentes. Chaque disposition possible est représentée par un petit triangle affecté d'une fraction. Au numérateur d'une fraction figure le nombre de méristèmes ayant initié au moins une tige, dans une disposition donnée. Au dénominateur est indiqué le nombre de méristèmes ayant cette disposition et mis en culture. Tous les méristèmes mis en culture avaient initié une ou plusieurs racines.

L'étude, à la loupe binoculaire, de l'aspect des méristèmes venant d'être prélevés et mis en culture, montre qu'une hétérogénéité est apparente dès ce stade. Des différences, de taille et d'aspect, se manifestent, par exemple, suivant que l'on a prélevé ou non un fragment de tissu vascularisé sous-jacent au méristème lui-même, ou suivant que l'on a ou non détaché un soubassement de type foliacé.

La proportion relative des divers types de cellules, rendue différente d'un méris-

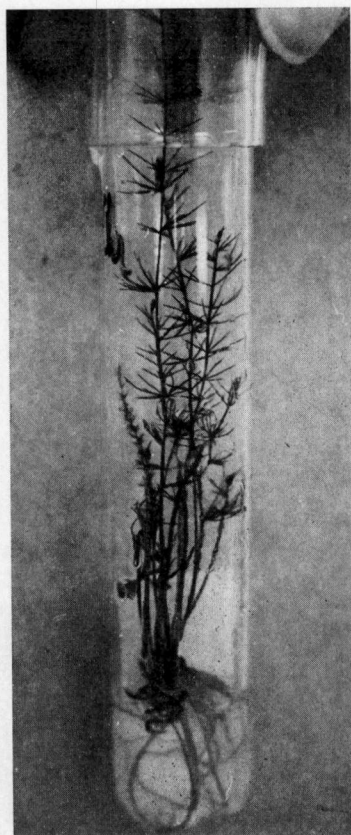


FIG. 10

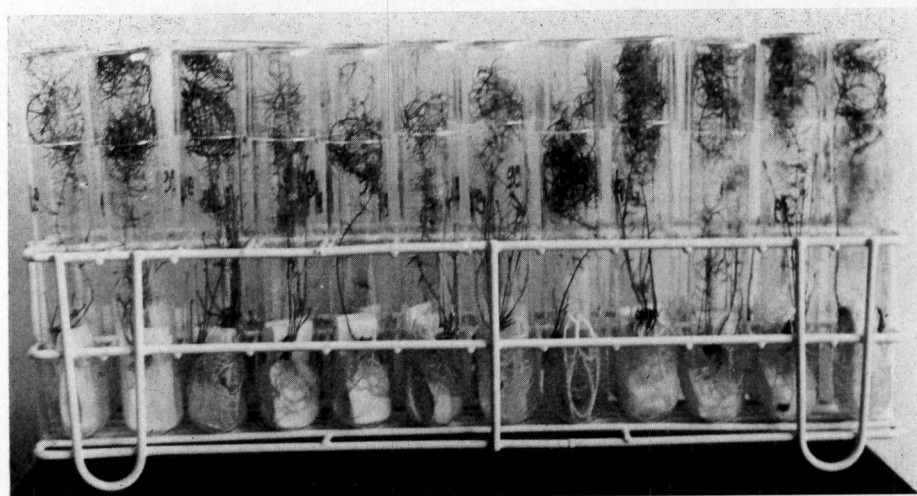


FIG. 11

FIG. 10 et 11. — Influence d'un repiquage supplémentaire dans le milieu T_0 liquide

tème à l'autre par la technique de prélèvement, serait alors une cause de la variabilité de développement des plantes. Chaque méristème prélevé représenterait une situation différente dont la morphogenèse serait dictée par les relations entre familles cellulaires (DEMARLY, 1974).

La variabilité introduite dès le début de l'expérience, par la technique du prélèvement pourrait masquer d'autres sources de variation, l'hétérogénéité des réponses observée n'étant alors que la résultante de plusieurs variabilités. Des expériences sont en cours pour tenter de les discriminer.

b) *Difficulté de reprise en terre.*

La difficulté de reprise en terre semble manifestement liée au fait que les plantes obtenues *in vitro* par culture de méristèmes ne sont pas comparables, au moment du transfert en terre, à des plantes issues de graine ou provenant de bouturage. Elles en diffèrent par :

- l'insuffisance du développement des tiges,
- l'absence de griffe *in vitro* à ce stade.

Le développement des plantes *in vitro* est amélioré par un repiquage dans le milieu T_0 , après 6 à 8 semaines de culture sur le milieu CM_1 sans ANA. Le milieu T_0

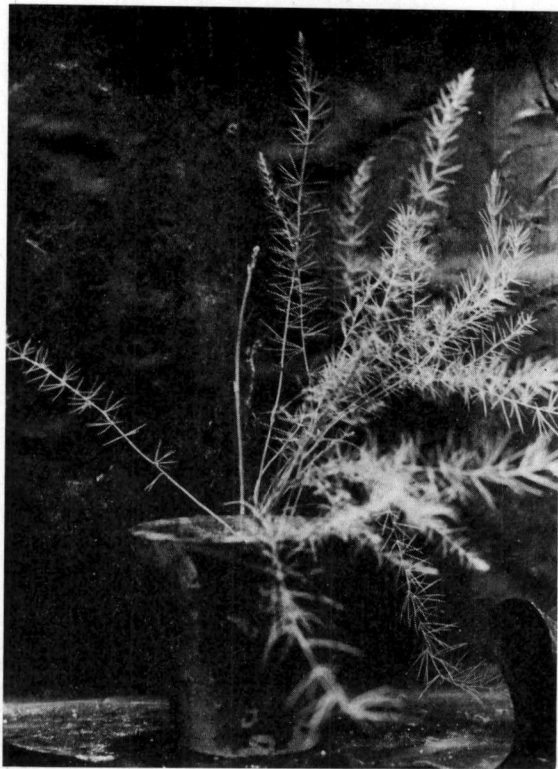


FIG. 12. — *Reprise en terre d'une plante issue de culture de méristèmes*
On remarque la présence d'une tige de type dressé, signal du début de la reprise en terre,
tandis que les nombreuses tiges (à droite) développées après le repiquage
en terre sont de type buissonnant

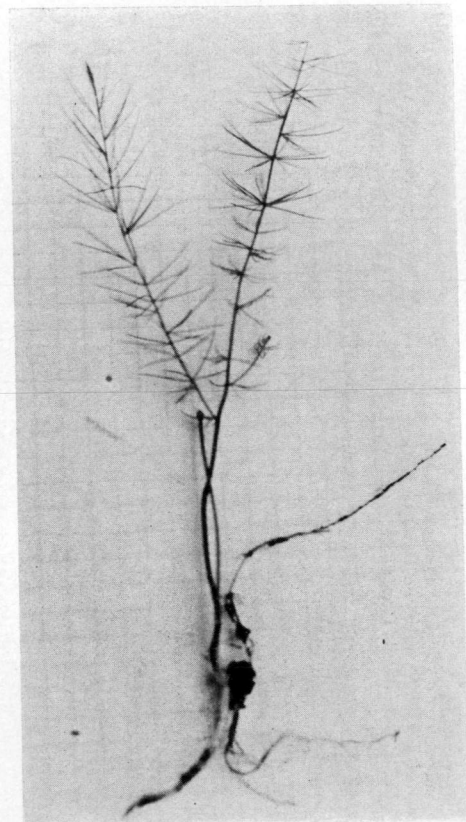
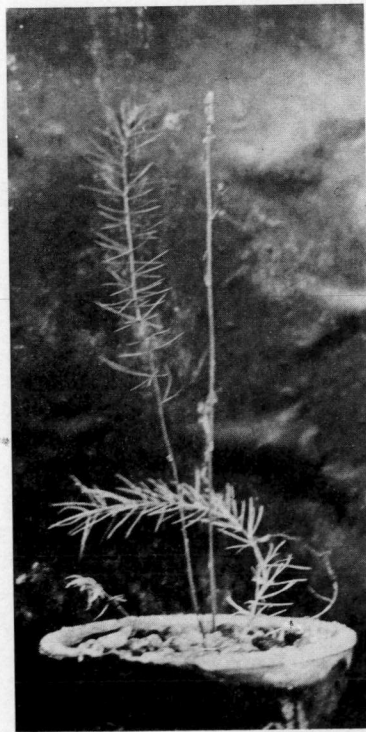


FIG. 13 et 14. — Cas du clone G

FIG. 13. — Début de la reprise en terre de plantes provenant de cultures de méristèmes in vitro, initiation de tiges dressées, signal du début de la reprise

FIG. 14. — Plante déterrée au même stade : à gauche, la nouvelle plante avec griffe, à droite, la plante-relai initiée in vitro

est employé ici à l'état liquide, car le repiquage dans un milieu solide crée un risque de cassure des racines lors du transfert. La plante est maintenue le long d'une languette de papier filtre. Dans les jours qui suivent le repiquage dans le milieu T_0 liquide, les racines et les tiges préexistantes s'allongent. De nouvelles tiges sont émises ainsi que des racines primaires et secondaires (fig. 10 et 11). Il n'y a néanmoins pas d'initiation de griffe à ce stade (fig. 10).

Les plantes sont repiquées en terre après un mois de culture dans le milieu T_0 liquide. Dans les jours qui suivent le repiquage en terre, les bourgeons et les tiges initiés *in vitro* se développent en buissonnant. La reprise effective intervient seulement lorsque la plante émet des tiges dressées à longs entre-nœuds (fig. 12), en relation avec l'initiation d'une griffe.

L'exemple des plantes obtenues par culture de méristèmes du géniteur G constitue un cas extrême. Les parties initiées *in vitro* ont complètement dégénéré tandis qu'une nouvelle plante s'est formée (fig. 13 et 14).

Il faut deux à six mois selon les méristèmes d'un même turion pour que la reprise en terre soit assurée. L'étalement demeure important, il reflète la variabilité entre les méristèmes. Huit mois après la mise en culture des méristèmes, les plantes obtenues mesurent de 40 à 80 cm selon la rapidité de reprise en terre (fig. 15).

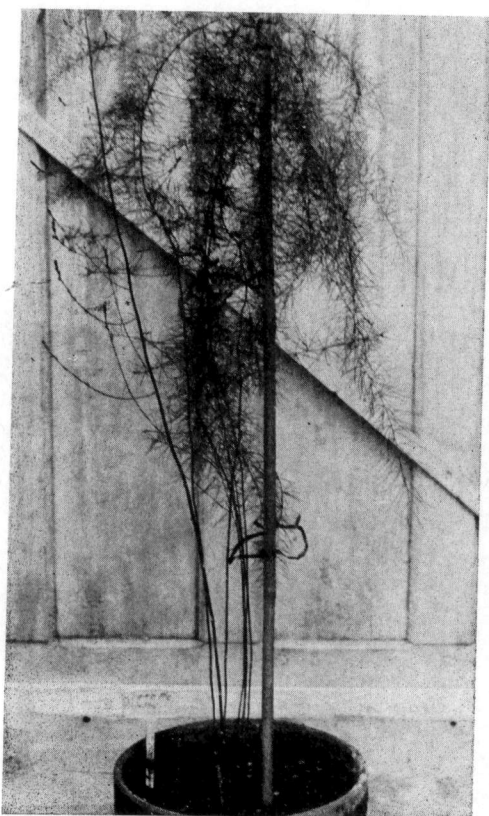


FIG. 15. — Plante issue du développement d'un méristème huit mois après mise en culture du méristème *in vitro*

Dans tous les cas, la plante initiée *in vitro* à partir d'un méristème apparaît donc comme un *relai*, à partir duquel une nouvelle plante se forme. Elle pousse alors normalement grâce à sa griffe.

Le niveau de ploïdie se maintient à travers la culture *in vitro*.

3. Influence du génotype.

La multiplication d'une vingtaine de géniteurs diploïdes mâles ou femelles est en cours. Les premiers résultats permettent de constater que l'on obtient une plante pour deux ou trois méristèmes mis en culture (tabl. 4).

TABLEAU 4

Premiers résultats de la culture de méristèmes in vitro de géniteurs d'hybrides dits simples

Géniteurs	Nbre de méristèmes mis en culture	Nbre de plantes repiquées en terre	Nbre de plantes effectivement reprises en terre	Pourcentage de reprise en terre
A ⁽¹⁾	185	162	78	42
D ⁽¹⁾	148	146	80	54
G ⁽²⁾	192	188	61	32

⁽¹⁾ 2 turions.

⁽²⁾ 3 turions.

Il n'y a pas de différences remarquables suivant que l'on utilise des méristèmes de géniteurs mâles ou de géniteurs femelles. En revanche les réactions à toutes les étapes de la culture varient d'un génotype à l'autre.

On note des différences dans la morphologie des racines émises *in vitro* (les unes s'allongent, d'autres restent courtes et trapues ; la couleur varie du blanc nacré au brun clair), dans la rapidité de la croissance (le repiquage sur le milieu CM₁ sans ANA est effectué de 22 à 26 jours après la mise en culture), dans la vigueur des plantules *in vitro*, dans la morphologie des tiges émises avant et pendant la reprise en terre (les tiges émises sont plus ou moins nombreuses, plus ou moins buissonnantes, parfois ramifiées).

Cet ensemble de données se traduit par une aptitude à la reprise en terre différente selon les génotypes.

C. — Bilan de la culture de méristèmes in vitro

La plante obtenue *in vitro* est dépourvue de griffe et la reprise en terre n'est assurée que lorsque l'initiation de la griffe a eu lieu.

Le nombre de plantes obtenues est limité par le nombre de méristèmes mis en culture (ce nombre pouvant d'ailleurs être grand). Les aléas de la reprise en terre diminuent le nombre final de plantes. Il faut chaque fois repartir d'un nouveau turion pour une nouvelle série de méristèmes cultivés.

Comme dans le cas des plantes issues du bouturage, la fragmentation des griffes obtenues permet d'augmenter l'effectif du clone.

La culture de méristèmes permet de multiplier végétativement des plantes âgées.

On peut s'attendre à rencontrer certains génotypes plus difficiles que d'autres à cloner par cette méthode. Dans ce cas, on peut faire appel au bouturage *in vitro*, afin d'obtenir un effectif suffisant. On prélève alors sur les plantes issues de méristèmes, avant le repiquage en terre et une fois la reprise assurée, des portions de tiges à longs entre-nœuds situés dans la partie basale de la tige.

CONCLUSION

Le bouturage *in vitro* et la culture de méristèmes *in vitro* sont deux méthodes efficaces pour multiplier végétativement l'Asperge.

A partir d'un individu, il est possible de constituer un clone d'effectif important dans un délai raisonnable. Ces deux méthodes permettent ainsi de multiplier les parents des hybrides d'Asperge et de mettre en place des champs de production de graines hybrides. Elles rendent donc possible la réalisation de programmes d'amélioration de l'Asperge utilisant des hybrides pour augmenter le rendement.

Outre la multiplication clonale des géniteurs d'hybrides d'Asperge, ces deux méthodes peuvent être employées à diverses occasions, en particulier pour la conservation d'un génotype ou le rajeunissement des géniteurs âgés.

Ces deux méthodes peuvent se compléter pour assurer une production importante de plantes. Le bouturage *in vitro* convient mieux dans le cas de tissus jeunes, tandis que la culture de méristèmes concerne plutôt la multiplication des plantes âgées. La culture de méristèmes permet de parvenir plus rapidement à des plantes repiquables en terre.

Parvenues à l'âge adulte, les plantes sont identiques quelle que soit la méthode de multiplication employée. En revanche si nous comparons les plantes obtenues *in vitro* nous voyons combien elles diffèrent à ce stade : par bouturage, on obtient directement la plante avec une griffe, alors que par culture de méristèmes, on a d'abord une plante-relai. Cette différence a des conséquences directes sur la reprise en terre de la plante.

Dans le cas des plantes issues de méristèmes, il faudrait réussir à avancer l'initiation de la griffe afin qu'elle ait lieu dès le stade *in vitro*. L'étape de la reprise en terre en serait grandement facilitée.

Dans le cas du bouturage nous avons pu mettre en évidence quelques facteurs influençant cette initiation, les causes exactes du déclenchement du phénomène d'initiation de la griffe ne sont pas encore toutes définies.

Il s'agit donc, dans le cas des plantes provenant du bouturage comme dans le cas des plantes issues de méristèmes, d'un même phénomène physiologique : celui du déclenchement de l'initiation de la griffe, dont les techniques de culture *in vitro* nous ont permis une première approche. Une meilleure connaissance de ce phénomène permettrait de l'induire plus systématiquement et au moment voulu.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier particulièrement M^{me} THÉVENIN et M. TEISSEIRE, pour l'aide qu'ils nous ont apportée dans la réalisation de ce travail.

SUMMARY

CLONAL MULTIPLICATION OF ASPARAGUS THROUGH *IN VITRO* CULTURE :
ITS USE IN BREEDING

Yield improvement is the most important aim in Asparagus breeding programmes. It may be reached through hybrid creation (so-called simple hybrids and F₁ hybrids).

Thanks to their efficiency, *in vitro* cutting and meristem culture are of great help to carry out these programmes, as they allow clonal multiplication of the parents of these hybrids.

In vitro cutting developed on stems regenerated from callus of pollinic origin, was then applied to stems of different ages and origins.

In vitro cutting enables to take advantage of another new source of homozygotic plants and to multiply the selected parents through clonal propagation.

Cutting allows to obtain plants with a crown *in vitro*, which appears to favour a successful transplantation in soil.

Meristem culture is used to multiply the parents of the so-called simple hybrids. In this case the plants obtained have no crown *in vitro* at this stage. For the transplantation to be successful, plants must then initiate a crown in soil.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ANDREASSEN D. C., ELLISON J. H., 1967. Root initiation of stem cuttings from mature Asparagus plants. *Proc. Amer. Soc. hort. Sci.*, **90**, 159-162.
- AYNSLEY J. S., 1973. The ability of callus cultures of *Asparagus officinalis* L. to initiate roots. 3rd Congr. IAPTC, Leicester, communication n° 143.
- AYNSLEY J., MARSTON M., 1973. Future of clonal multiplication of Asparagus looks promising. *The Grower*, **6**, 10-73.
- BANNEROT H. et al., 1969. Résultats d'un essai comparatif de populations d'Asperge. *Ann. Amélior. Plantes*, **19** (3), 289-324.
- BIGARD J., 1971. *Étude de la formation et de l'évolution d'une griffe d'Asperge*. Mémoire fin d'études. E. N. S. A., Rennes, 54 p.
- BOURGIN J. P., MOREL G., MULLER J. F., 1973. La multiplication végétative de l'Asperge. 96^e Congr. nation. Soc. savantes, 1971, Toulouse, **4**, 107-112.
- BUI DANG HA D., 1973. Formation de tiges, racines, embryoides et plantes entières à partir des cals d'Asperge provenant de protoplastes. *Eucarpia*, 4^e réunion sur la sélection de l'Asperge, Versailles, 155-162.
- DAVIES D. R., 1970. Uniform crops result of Asparagus tissue culture propagation. *The Grower*, **31** (1), 70.
- DEMARLY Y., 1972. Régulation et hétérosis. *Ann. Amélior. Plantes*, **22** (2), 143-166.
- DEMARLY Y., 1974. Les effets cytoplasmiques et l'amélioration des plantes. *Sélectionneur fr.*, **19**, 61-88.
- DORÉ C., 1973. Androgénèse *in vitro* par culture d'anthers d'*Asparagus officinalis*. État actuel des recherches. *Eucarpia*, 4^e réunion sur la sélection de l'Asperge, Versailles, 173-181.
- DORÉ C., 1974. Production de plantes homozygotes mâles et femelles à partir d'anthers d'Asperge. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, série D, **278**, 2135-2138.
- DORÉ C., 1975. *Utilisation de la culture in vitro chez l'Asperge cultivée (Asparagus officinalis L.)*. Thèse de 3^e cycle. Univer. Paris-Sud, Orsay, 68 p.

- GALSTON A. W., 1948. On the physiology of root initiation in excised *Asparagus* stem tips. *Amer. J. Bot.*, **35**, 281-287.
- GORTER C. J., 1965. Vegetative propagation of *Asparagus officinalis* by cuttings. *J. hort. Sci.*, **40**, 177-179.
- HARADA H., 1973. Differentiation of shoot, roots and somatic embryos in *Asparagus* tissue culture. *Eucarpia*, 4^e réunion sur la sélection de l'Asperge, Versailles, 163-170.
- HASEWAGA P. M., MURASHIGE T., TAKATORI F. H., 1973. Propagation of *Asparagus* through shoot apex culture, II. *J. Amer. Soc. hort. Sci.*, **98** (2), 143-148.
- HELLER R., 1953. *Recherches sur la nutrition minérale des tissus végétaux cultivés in vitro*. Thèse Paris, 223 p. et *Ann. Sci. nat. Bot. Biol. vég.*, **14**, 1-223.
- JULLIEN M., 1973. La culture *in vitro* de cellules séparées du tissu foliaire d'Asperge. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, série D, **276**, 733-736.
- JULLIEN M., 1973. Division et croissance *in vitro* de cellules séparées du parenchyme foliaire d'Asperge. *Z. Pflanzenphysiol.*, **69**, 129-141.
- LOO S. W., 1945. Cultivation of excised stem tips of *Asparagus in vitro*. *Amer. J. Bot.*, **32**, 13-17.
- LOO S. W., 1946. Further experiments on the culture of excised *Asparagus* stem tips *in vitro*. *Amer. J. Bot.*, **33**, 156-9.
- MATSUBARA S., 1973. Population effect in lateral bud culture of *Asparagus* and promotion of root formation by transplanting. *J. Jap. Soc. hort. Sci.*, **42** (2), 142-146.
- MOREL G., WETMORE R. H., 1951. Fern callus tissue culture. *Amer. J. Bot.*, **38** (5), 141-143.
- MULLER J. F., BOURGIN J. P., MOREL G., 1973. La culture *in vitro* du méristème caulinaire de l'Asperge. *Eucarpia*, 4^e réunion sur la sélection de l'Asperge, Versailles, 133-142.
- MURASHIGE T., SKOOG F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with Tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*, **15**, 473-497.
- MURASHIGE T., SHABDE M. N., HASEGAWA P. M., 1972. Propagation of *Asparagus* through shoot apex culture. I. *J. Amer. Soc. hort. Sci.*, **97** (2), 158-161.
- PELLETIER G., RAQUIN C., SIMON G., 1972. La culture *in vitro* d'anthères d'Asperge (*Asparagus officinalis*). *C. R. Acad. Sci.*, Paris, série D, **274** (6), 848-851.
- RAQUIN C., 1973. Étude de l'androgénèse *in vitro* chez *Petunia hybrida* et *Asparagus officinalis*. *Bull. Soc. bot. Fr.*, *Mém.* 1973, Coll. Morphologie, 269-274.
- RIVIÈRE S., 1973. Les activités méristématiques durant l'ontogénèse d'une plantule d'*Asparagus officinalis*. *Eucarpia*, 4^e réunion sur la sélection de l'Asperge, Versailles, 89-99.
- RIVIÈRE S., MULLER J. F., 1974. Résultats obtenus par la multiplication végétative *in vitro* des bourgeons souterrains d'*Asparagus officinalis* L. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, série D, **279**, 899-902.
- SNEEP J., 1953. The significance of andromonoecy for the breeding of *Asparagus officinalis* L. *Euphytica*, **2**, 89-95, 224-228.
- TAKATORI F. H., MURASHIGE T., STILLMAN J. I., 1967. Tissue culture of *Asparagus* plants. *Calif. Agr.*, **26**, 8-9.
- TAKATORI F. H., MURASHIGE T., STILLMAN J. I., 1968. Vegetative propagation of *Asparagus* through tissue culture. *Hort. Science*, **3** (1), 20-22.
- TENDILLE C., 1973. Multiplication végétative des asperges. Nutrition minérale des méristèmes et des plantules en résultant. *Eucarpia*, 4^e réunion sur la sélection de l'Asperge, Versailles, 143-151.
- TENDILLE C., LECERF M., 1974. La multiplication végétative de l'Asperge (*Asparagus officinalis* L.). Action de divers facteurs, en particulier de la nutrition minérale, sur le développement des méristèmes d'Asperge, sur la croissance des plantules issues de ces méristèmes et sur la production de plantes adultes. *Ann. Amélior. Plantes*, **24** (3), 269-282.
- THÉVENIN L., 1967 a. Asperge. *Rapport d'activité 1965-1967, Station de Génétique et d'Amélioration des Plantes de Versailles*, 23-29.
- THÉVENIN L., 1967 b. Les problèmes d'amélioration chez *Asparagus officinalis* L. I. Biologie et Amélioration. *Ann. Amélior. Plantes*, **17** (1), 33-36.
- THÉVENIN L., 1968. Les problèmes d'amélioration chez *Asparagus officinalis* L. II. Haploïdie et Amélioration. *Ann. Amélior. Plantes*, **18** (4), 327-365.
- THÉVENIN L., 1971. Asperge. *Rapport d'activité 1968-1971. Station de Génétique et d'Amélioration des Plantes de Versailles*, 30 p.
- THÉVENIN L., 1973. Les divers aspects de la sélection de l'Asperge en France. *Eucarpia*, 4^e réunion sur la sélection de l'Asperge, Versailles, 55-69.
- THÉVENIN L., 1974. Haploids in *Asparagus* breeding. *Haploids in higher plants. Proc. 1st Intern. Symp.*, Guelph, p. 279.
- WILMAR C., HELLENDORF M., 1968. Growth and morphogenesis of *Asparagus* cells cultured *in vitro*. *Nature*, **217** (5126), 369-370.
- YAKUWA T. et al., 1971. Studies on the morphogenesis of *Asparagus* : I et II. *J. Jap. Soc. hort. Sci.*, **40**, 230-236, 347-353.
- YANG H. J., CLORE W. J., 1973. Rapid vegetative propagation of *Asparagus* through lateral bud culture. *Hortscience*, **8** (2), 141-143.

- YANG H. J., CLORE W. J., 1973. Induction of aerial crowns in *Asparagus* by kinetin — A. I. A. treatment. *Hortscience*, **8** (6), 490-491.
- YANG H. J., CLORE W. J., 1974. Development of complete plantlets from moderately vigorous shoots of stock plants of *Asparagus in vitro*. *Hortscience*, **9** (2), 138-140.
- YANG H. J., CLORE W. J., 1974. Improving the survival of aseptically-cultured *Asparagus* plants in transplanting. *Hortscience*, **9** (3), 235-236.

ANNEXE

A. — Composition des milieux de culture in vitro

1. Le milieu T_0 (PELLETIER *et al.*, 1972; DORÉ, 1974 ⁽¹⁾) comprend :

- la solution de macro-éléments décrite par MURASHIGE et SKOOG (1962), diluée deux fois ;
- la solution de micro-éléments (sans FeCl_3) décrite par HELLER (1953) ;
- la solution de vitamines B décrite par MOREL et WETMORE (1951) ;
- 27,85 mg/l de $\text{FeSO}_4 (7\text{H}_2\text{O})$;
- 37,25 mg/l de $\text{Na}_2 \text{EDTA}$;
- 20 g/l de saccharose ;
- 6 g/l d'agar-agar.

Le pH est ajusté à 5,8.

2. Le milieu CM_1 comprend :

- la solution de macro-éléments « KNO_3 », décrite par TENDILLE (1973) concentrée 1,66 fois ;
- la solution de micro-éléments décrite par TENDILLE et LECERF (1974) ;
- la solution de vitamines B décrite par MOREL et WETMORE (1951) ;
- 1 mg/l d'acide naphthalène acétique ;
- 0,1 mg/l de kinétine ;
- 0,1 mg/l d'acide gibbérellique ;
- 27,85 mg/l de $\text{FeSO}_4 (7\text{H}_2\text{O})$;
- 37,25 mg/l de $\text{Na}_2 \text{EDTA}$;
- 20 g/l de saccharose ;
- 6 g/l d'agar-agar.

Le pH est ajusté à 5,8.

B. — Conditions de culture

1. Culture en conditions aseptiques.

Le matériel végétal non cultivé précédemment en conditions aseptiques est désinfecté à l'hypochlorite de calcium à 4 p. 100 pendant 5 minutes. Le matériel

(¹) Dans cet article (p. 2135, 3 dernières lignes), une erreur s'est glissée dans les concentrations des substances de croissance du milieu A_1 . Veuillez lire 10^{-4} au lieu 10^{-7} .

végétal est cultivé dans des tubes de culture fermés par des capuchons de verre. Les tubes sont entreposés dans une salle climatisée à 21-23°C, et reçoivent un éclairage de 2 000 lux, 16 heures sur 24.

2. *Culture en conditions horticoles.*

Le repiquage en terre des plantes est effectué dans des pots contenant un mélange sable-terreau (1 pour 2 en volume). Les pots baignent dans une solution nutritive et sont placés dans une enceinte climatisée où l'humidité relative est de 60 p. 100. La température alterne entre 28°C le jour et 12°C la nuit. Les plantes reçoivent un éclairage de 10 000 lux, 16 heures sur 24.

NOTE TECHNIQUE

PROPAGATION VÉGÉTATIVE DE LA FÉVEROLE (*VICIA FABA*) A PARTIR DE FRAGMENTS DE TIGES

Anne-Marie AUBRY, P. DUTUIT, H. THIELLEMENT et A. BERVILLÉ

*Laboratoire d'Amélioration des Plantes, I. N. R. A.,
Université Paris-Sud, Bâtiment 360,
91405 Orsay*

RÉSUMÉ

Des graines de Féverole sont mises à germer en milieu stérile. Au fur et à mesure de l'apparition des tiges, des fragments sont prélevés et déposés sur le milieu mis au point qui favorise l'enracinement. Les boutures ainsi obtenues sont ensuite placées en serre.

INTRODUCTION

L'obtention de boutures de Féverole est possible depuis très longtemps par une technique très simple ; il suffit de prélever l'apex d'une tige avec deux ou trois nœuds et de la faire séjourner dans l'eau. Après quelques jours on observe parfois l'apparition de racines à la base de la tige. Ce phénomène est resté au stade de curiosité, car dès que nous avons voulu l'utiliser pour la multiplication végétative intense, de nombreux facteurs ont encore limité la réussite : mauvaise reprise en terre, risques d'infections élevés, noircissement, puis nécrose due à l'oxydation des phénols.

MATÉRIEL, ET MÉTHODES

Pour pallier ces inconvénients nous avons réalisé les boutures en conditions stériles sur des milieux gélosés, permettant l'apport contrôlé des facteurs nutritifs et des substances de croissance. (AUBRY, 1974 ; HOFMANN, 1972 ; DUTUIT, 1975). Ces milieux (annexe I) sont relativement riches pour tenir compte du fait que les plantes y séjournent près de trois mois, et contiennent également

des substances de croissance puisqu'on recherche un milieu de culture favorisant l'apparition de racines.

A partir du matériel fourni par la Station d'Amélioration des Plantes de Rennes (BERTHELEM, 1971), nous avons utilisé des apex issus de graines en germination (lignée L. 9 : Féverole d'hiver) placées dans les conditions stériles, sur un milieu gélosé contenant les macro-éléments de Knop.

Nous laissons l'apex se développer ; lorsque le troisième entre-nœud est bien visible, nous incisons la tige sous le deuxième nœud ; elle est fragmentée ; l'apex, et les deux entre-nœuds sous-jacents, sont implantés séparément sur le milieu de bouturage.

A partir d'une graine il est possible de prélever ainsi, successivement, à une semaine d'intervalle au moins quatre apex qui donnent chacun trois fragments.

RÉSULTATS

Dans le tableau 1 on peut lire les résultats obtenus avec les différents milieux. La réussite du bouturage des apex est nettement plus fréquente que celle des segments intermédiaires, aussi les chiffres présentés ne sont-ils qu'une moyenne.

TABLEAU I

N° milieu	4	5	10	11
Macro-éléments Skoog	20 ml	20 ml	20 ml	20 ml
Micro-éléments de Heller	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l
Fe EDTA	10^{-5} M/l	10^{-5} M/l	10^{-5} M/l	10^{-5} M/l
Glucose	10 g/l	10 g/l	10 g/l	10 g/l
Vitamines Morel	2 ml/l	2 ml/l	2 ml/l	2 ml/l
Agar	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l
Substances de croissance	AIA 10^{-8}	AIA 10^{-6}	ANA 10^{-8}	ANA 10^{-6}
Fragments mis en culture	24	24	24	24
Fragments enracinés	4	4	2	8
Fragments non infectés non nécrosés	8	13	4	15

Des racines se développent à la base des tiges qui ont gonflé depuis leur prélèvement, sans que l'on puisse vraiment parler de la constitution d'un cal. Dans certains cas néanmoins on observe d'abord l'édification d'un cal primaire.

Il y a une corrélation inverse entre l'enracinement et la nécrose des tiges, sur le milieu nutritif c'est-à-dire en conditions stériles.

Après cinq ou six semaines de culture des apex ou des entre-nœuds à $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$ sous une photopériode de 16 heures, les racines ont déjà nettement proliféré, et le fragment s'est considérablement allongé, ce qui permet de placer la bouture en serre (fig. 1).

Le problème de la reprise en terre des tiges enracinées est délicat du fait du noircissement des tiges par l'oxydation des phénols, ou du développement du Botrytis. Les boutures racinées sont retirées des tubes et débarrassées du milieu gélosé qui peut y adhérer. Elles sont plantées dans un mélange stérilisé terreau, tourbe, sable (1/3, 1/3, 1/3). Elles sont placées sous un film plastique, afin de conserver un degré hygrométrique élevé, dans des châssis à l'extérieur où la température est de 8 à 10°C le jour, 72 heures après des trous sont pratiqués dans le plastique et 48 heures après, on retire le film. Pendant la quinzaine de jours suivants, les boutures seront alternativement traitées contre le Botrytis et arrosées. Après cette période, le toit des châssis peut-être retiré dans la journée. Le maintien des boutures à des températures basses réalise leur vernalisation.



FIG. 1. — Bouture racinée après six semaines de culture in vitro
(Photo D. FROGIER)

CONCLUSION

Nous nous proposons d'utiliser cette technique pour étudier la ségrégation du facteur de stérilité mâle au cours de la multiplication végétative de la Féverole. Ce travail est en cours de réalisation.

Cette technique peut aussi s'appliquer chaque fois qu'on désire obtenir du matériel uniforme car elle permet un clonage rapide, par exemple pour pallier un faible coefficient de multiplication en autofécondation, et obtenir en abondance un matériel très homogène pour des tests de résistance aux maladies.

Enfin cette technique est un pas vers l'obtention de cultures de tissus proprement dits, ce qui est encore difficile à réaliser chez la Féverole.

Reçu pour publication en février 1975.

SUMMARY

VEGETATIVE PROPAGATION OF FIELD BEANS (*VICIA FABA*) FROM THE NODES OF THE STEM

Seeds of Field Beans are growing in sterilized medium. Apex are taken in succession and transplanted on a medium which aids rooting. Then cuttings are put in a green-house.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AUBRY A. M., 1974. *Contribution à l'étude de la ségrégation végétative du facteur de stérilité chez les féveroles mâle-stériles cytoplasmique*. D. E. A. de Génétique quantitative et appliquée. Université de Paris VI.
- BERTHELEM P., 1974. *Rapport d'activité 1968-1970 de la Station d'Amélioration des Plantes de Rennes*, I. N. R. A.
- BOND D., 1966. Male sterility in field Beans : male sterility with a cytoplasmic type of inheritance. *J. agri. Sci.*, **66**, 369-373.
- DUTUIT P., 1975. Thèse de 3^e Cycle. Université de Paris-Sud (à paraître).
- HOFMANN J. P., 1972. *Contribution à l'étude de la stérilité mâle de la Féverole*. D. E. A. Amélioration des Plantes. Université de Paris-Sud.

ANNEXE I

(a)		(b)	
Milieu de germination		Knop : éléments en g/l	
Macro-éléments de Knop au	1/2	(NO ₃) ₂ Ca, 4H ₂ O	0,5
Micro-éléments de Heller ..	1 ml/l	NO ₃ K	0,125
Glucose	10 g/l	SO ₄ Mg, 7H ₂ O	0,125
Vitamines de Morel	2 ml/l	PO ₄ H ₂ K	0,125
Agar	7 g/l		

(c)

Composition détaillée

Na ₂ EDTA	37,25 mg/l
FeSO ₂ , 2H ₄ O	27,85
Vitamines de Morel :	
Pantothénate de calcium	I
Myo-inositol	10
Biotine	0,01
Acide nicotinique	I
Thiamine	I

ABRÉVIATIONS

ANA : acide naphtalène acétique.

AIA : acide indolyl-acétique.

COMMUNIQUÉ

**MUTATIONS INDUITES
ET AMÉLIORATION DES PLANTES**

A. MICKE

*Chef de la Section de l'Amélioration des Plantes et de la Génétique,
Division mixte FAO/AIEA de l'Énergie atomique dans l'Alimentation
et l'Agriculture,
Vienne (Autriche)*

Les mutations induites sont largement utilisées dans la recherche génétique et se sont révélées un instrument de diagnostic précieux pour l'étude des processus métaboliques chez les plantes, celle des relations hôte/parasite et celle de l'évolution des plantes. Ces études ont certainement un grand intérêt indirect pour le spécialiste de l'amélioration des plantes ; néanmoins, les mutations induites ont aussi contribué directement à la mise au point de variétés améliorées de plantes cultivées.

TABEAU I

Plantes améliorées à la suite de mutations induites

	Nombre de variétés
Blé	12
Riz	18
Orge	24
Avoine	5
Légumineuses	22
Fruits	7
Plantes d'ornement	47
Autres	17

En nous fondant sur des renseignements reçus de différentes régions du monde, nous avons établi une liste des variétés de plantes cultivées qui ont été mises au point à l'aide des mutations induites. Cette liste comprend actuellement 152 variétés, dont 105 plantes alimentaires et 47 plantes d'ornement. Le tableau 1 indique le nombre de ces variétés pour certaines espèces et familles de plantes. Les caractères qui, d'après les rapports, ont été améliorés par les mutations

induites sont énumérés au tableau 2. Les types d'amélioration sont multiples, néanmoins l'amélioration ne porte le plus souvent que sur un ou quelques caractères d'un génotype utile qui est resté autrement inchangé.

TABLEAU 2

Caractères de variétés commerciales de plantes, améliorés à la suite de mutations induites

	Fréquence des améliorations signalées		
	Céréales	Légumineuses	autres
Rendement plus élevé	28	11	10
Meilleure résistance à la verse	25	3	
Meilleure résistance à la maladie	13	9	2
Maturité précoce	20	10	8
Taille plus grande	15	2	
Meilleure qualité	16	3	12
Meilleure résistance à l'hiver	3		
Teneur en protéines accrue	3	2	
Égrenage réduit		2	

Les autres caractères dont l'amélioration a été signalée sont les suivants : résistance à la germination, résistance à la sécheresse, adaptabilité, poids du millier de grains, coloration du grain, caractéristiques concernant l'arête, facilité de récolte.

Nous savons que les renseignements qui nous sont parvenus sont loin d'être complets. En particulier, nous soupçonnons l'existence de nombreuses variétés qui ont, dans leur héritage, des gènes provenant de croisements avec des mutants induits. Pour pouvoir établir un tableau plus complet et plus objectif de la possibilité d'utiliser les mutations induites dans l'amélioration des plantes, nous serions heureux d'obtenir des renseignements au sujet de ces variétés, notamment de la part de ceux qui s'occupent professionnellement de l'amélioration des plantes. Nous avons l'intention de publier ces renseignements dans notre « Mutation Breeding Newsletter ».

Veuillez envoyer vos lettres à l'adresse suivante :

M. A. MICKE
Section de l'Amélioration des Plantes et de la Génétique,
Division mixte FAO/AIEA,
B. P. 590, A-1010 Vienne (Autriche)

Reçu pour publication en février 1975.

RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS

Le manuscrit doit être dactylographié sur papier format 21 × 29,7, avec un double interligne, au recto seulement. Chaque page sera numérotée et des feuilles *séparées* seront utilisées pour les références bibliographiques, les tableaux, les légendes des figures et graphiques, etc.

Au début de chaque mémoire, on indiquera : — le titre du mémoire ; il ne devra pas comporter d'abréviations ni de formules chimiques (sauf pour les isotopes) ; — le nom des auteurs, précédé des initiales du prénom pour les hommes, du prénom complet pour les femmes ; — le nom des techniciens ayant collaboré à l'étude relatée, précédé de la mention : avec la collaboration technique de... ; le nom de l'établissement, dans lequel ont été effectuées les recherches et son adresse.

Les mémoires seront rédigés, autant que possible, d'après le plan ci-dessous :

a) *résumé* (250 mots max.) suffisamment précis pour que sa lecture renseigne sur la nature du travail et son importance ; b) *introduction* dans laquelle on indique l'objet des recherches entreprises en relation avec les travaux déjà effectués dans le domaine ; c) *techniques expérimentales et matériel utilisé*, en donnant, sous une forme concise, tous les détails nécessaires pour que le lecteur puisse répéter les expériences ; d) *résultats*, à présenter de la manière la plus brève possible ; e) *discussion et conclusion* ; f) *titre et résumé* en anglais ou destiné à être traduit en anglais comportant une analyse complète de l'article ; g) *remerciements* pour les collaborations, les fonds, les dons... ; h) *références bibliographiques*.

Les travaux originaux en anglais doivent présenter la même composition que les mémoires rédigés en français, mais ils comportent obligatoirement un résumé français très complet. Les figures, graphiques, tableaux et photographies seront sous-titrés en français.

Pour les autres documents (notes, mises au point, revues, rapports, etc.), l'auteur devra suivre un plan logique et le mettre en évidence par une titration appropriée.

Les références bibliographiques doivent être citées dans le texte de la manière suivante : (DUPONT et DUVAL, 1954). Lorsque la référence comporte plus de trois auteurs, seul le premier sera mentionné, suivi de *et al.* A la fin de l'article, les références constituant la bibliographie doivent être citées par ordre alphabétique des noms d'auteurs, et par ordre de dates pour un même auteur.

Pour les articles : le (s) nom (s) de (s) auteur (s) suivi (s) des initiales du (des) prénom (s) ; la date de parution de l'article ; le titre de l'article (dans la langue originale pour l'allemand, l'anglais, l'italien, l'espagnol et en français dans tous les autres cas, avec indication entre parenthèses de la langue d'origine, sauf si l'auteur étranger a sous-titré dans l'une des quatre langues mentionnées) : le titre du périodique en abrégé, selon la *World List of Scientific Periodicals*, ou le *Bulletin Signalétique du C. N. R. S.* ; le volume, la première et la dernière page de l'article.

Pour les ouvrages : le nom de l'auteur avec les initiales du prénom ; la date de l'édition ; le titre complet de l'ouvrage dans la langue originale, sans abréviations (pour les langues utilisant des alphabets autres que l'alphabet latin, la traduction du titre sera donnée entre parenthèses, avec mention de la langue d'origine) ; le volume ; la première et la dernière page du paragraphe se rapportant aux résultats discutés, et, si l'on cite l'ouvrage en entier, le nombre de volumes et le nombre total de pages ; le numéro de l'édition s'il y en a plusieurs ; le nom de l'éditeur ; le lieu de l'édition. Si l'ouvrage est collectif, on indiquera en plus le nom de l'auteur du chapitre cité, le nom des rédacteurs principaux, précédé de la mention « in », le titre de l'ouvrage.

La mention de « communications personnelles » ou « données non publiées » etc. doit être faite entre parenthèses. Lorsque l'auteur a relevé une référence dans une revue d'« Abstracts », le mentionner à la fin de la référence, entre parenthèses.

Les tableaux, dessins, graphiques, cartes, photographies, doivent être fournis à part. Les tableaux et figures doivent faire l'objet de deux numérotations distinctes, en chiffres arabes l'une et l'autre.

Les auteurs peuvent disposer leurs tableaux soit dans le sens de la largeur de la revue, soit dans le sens de la longueur. Dans le sens de la largeur, le total des signes et des espaces disponibles est de 100. Dans le sens de la longueur, il est de 155. Les tableaux en longueur, c'est-à-dire ceux pouvant disposer de 155 signes, ne seront admis que s'ils comprennent plus de 8 lignes de chiffres, de manière qu'une page entière de la revue ne soit pas occupée par un tableau très long et très étroit. Les graphiques ne doivent pas faire double emploi avec les tableaux.

Les légendes et les énoncés des graphiques et dessins doivent être dactylographiés sur une même feuille séparée et porter les numéros des figures.

Les graphiques, schémas, cartes, dessins d'appareils seront envoyés soit à l'état définitif soit à l'état de projets, leur exécution définitive étant confiée au Bureau de Dessin de l'I. N. R. A. Seules deux réductions à l'impression sont admises : soit $\times 0,5$, soit $\times 0,25$.

Il est rappelé que le format utile des *Annales* est : 12,5 × 19 cm ; ces dimensions ne doivent pas être dépassées.

Photographies : Il est recommandé de fournir des épreuves bien contrastées sur papier blanc, et de préférence en format 9 × 12. Si les photographies doivent être associées pour constituer des planches, on adoptera les normes suivantes : 2 photos : 9 × 12 ; 4 photos : 9 × 5,5 ; 6 photos : 5,5 × 5,5. Dans ce cas, chaque photo devra porter un numéro en chiffres arabes visible après clichage.

Les légendes des photographies doivent être dactylographiées sur une même feuille séparée et porter les numéros des figures.

Il est demandé d'indiquer sur le manuscrit, dans la marge, en regard du texte, l'emplacement souhaité des tableaux et figures.

Envoi du manuscrit : M. RIVES ; Centre de Recherches de Bordeaux, 33140 Pont de la Maye, France. On demande deux exemplaires.

Correction des épreuves : les épreuves que les auteurs recevront à corriger sont à retourner, après correction, à cette même adresse.

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

PÉRIODIQUES

TARIF DES ABONNEMENTS POUR 1975	France	Étranger	Le N°
ANNALES AGRONOMIQUES, 6 n°s par an	225 F	246 F	45 F
ANNALES DE L'AMÉLIORATION DES PLANTES, 4 n°s par an	175 F	194 F	55 F
ANNALES DE PHYTOPATHOLOGIE, 4 n°s par an	200 F	220 F	70 F
ANNALES DE ZOOLOGIE-ÉCOLOGIE ANIMALE, 4 n°s par an	200 F	220 F	70 F
ANNALES DE ZOOTECHNIE, 4 n°s par an	200 F	220 F	70 F
ANNALES DE TECHNOLOGIE AGRICOLE, 4 n°s par an	175 F	194 F	55 F
ANNALES DE BIOLOGIE ANIMALE, BIOCHIMIE, BIOPHYSIQUE 4 n°s par an	225 F	246 F	75 F
ANNALES DES SCIENCES FORESTIÈRES, 4 n°s par an	175 F	194 F	55 F
ANNALES DE GÉNÉTIQUE ET DE SÉLECTION ANIMALE, 4 n°s par an	200 F	220 F	70 F
ANNALES DE RECHERCHES VÉTÉRINAIRES, 4 n°s par an	200 F	220 F	70 F
ANNALES D'HYDROBIOLOGIE, 2 n°s par an	105 F	116 F	70 F

APIDOLOGIE, 4 n°s par an — Abonnement : France : 50 F
Étranger sauf R. F. A. : 60 F
— Le numéro : France : 15 F
Étranger sauf R. F. A. : 20 F

DERNIERS OUVRAGES PARUS

Carte pédologique de France au 1/100 000. Toulon-P 23 et notice explicative, par J. Portier. 107 p. et une carte, 1974	53,50 F
Journées d'information sur l'alimentation azotée des animaux, Paris, 21-22 novembre 1973. 141 p., 1974	25,00 F
L'I. N. R. A. au service des Industries agricoles et alimentaires. Inventaire des Recherches. 266 p., 1974	35,00 F
Symposium international sur la conservation des grains récoltés humides, Paris, 5-10 mars 1973. 762 p., 1973	150,00 F
Le Pois. Étude génétique des caractères, classification, caractéristiques variétales portant sur les variétés inscrites au catalogue officiel français, par R. Cousin. 111 p. et 140 fiches, 1974	150,00 F
Contribution à l'étude de la Faune de France. Systématique de la tribu des Scymnini (Coccinellidae), par J. M. Gourreau. 223 p., 1974	85,00 F
Les arbres et arbrisseaux acclimatés en région méditerranéenne française. Catalogue commenté, par P. Augé, P. Allemand, R. Hamès. 144 p., 1973	58,85 F
Colloque sur l'ovogenèse et la folliculogenèse, Nouzilly, 14-16 déc. 1972. 258 p., 1973	120,00 F
Protoplastes et fusion de cellules somatiques végétales, Versailles, 11-15 septembre 1972. Coédition I. N. R. A.-C. N. R. S. 549 p., 1973	160,50 F
Recherches acridiennes à Madagascar. 262 p., 1972	80,00 F
IV ^e Conférence du groupe international d'étude des virus et des maladies à virus de la vigne, Colmar 16-18 juin 1970. 211 p., 1972	60,00 F
Lombriciens de France, Écologie et Systématique par M.-B. Bouché. 671 p., 1972	150,00 F
III ^e Conférence du Groupe consultatif des Statisticiens forestiers, Jouy en Josas, 7-11 septembre 1970. 332 p., 1972	139,75 F
Symposium international sur le soufre en Agriculture. Versailles, 3-4 décembre 1970. 412 p., 1972	50,00 F

Les demandes d'abonnements et les commandes doivent être adressées au Service des Publications de l'Institut national de la Recherche agronomique, route de Saint-Cyr, 78000 Versailles.
Règlement : par chèque bancaire à l'ordre du Régisseur des Publications de l'I. N. R. A., par virement postal à son compte courant : 9064-43 Paris, sans mentionner d'adresse, ou par bons U. N. E. S. C. O.
Les demandes peuvent être souscrites également par l'intermédiaire des libraires dans les conditions habituelles.
A Paris, bureau de vente : 11, rue Jean-Nicot.

TABLE DES MATIÈRES

L. BLONDEL. — Action comparée des gibbérellines et de l'incision annulaire sur la fructification du Clémentinier en Corse	85
M. DURON, C. BRIAN. — Mise en évidence de substances analogues aux gibbérellines et d'inhibiteurs chez le Pommier (<i>Malus pumila</i>). I. — Méthodologie	97
M. DURON, C. BRIAN. — Mise en évidence de substances analogues aux gibbérellines et d'inhibiteurs chez le Pommier (<i>Malus pumila</i>). II. — Application à l'étude de quelques génotypes porte-greffes et variétaux	113
H. LATERROT. — Sélection pour la résistance au Mildiou, <i>Phytophthora infestans</i> MONT., DE BARY chez la Tomate	129
R. WAGNER. — Amélioration génétique de la Vigne	151
Ph. AURIAU, P. PLUCHARD, B. MASSERET. — Recherches sur la vigueur hybride chez le Blé. I. — Résultats d'essais réalisés en 1971-72 et 1972-73	177
Claire DORÉ. — La multiplication clonale de l'Asperge (<i>Asparagus officinalis</i> L.) par culture <i>in vitro</i> : son utilisation en sélection	201
Anne-Marie AUBRY, P. DUTUIT, H. THIELLEMENT, A. BERVILLÉ. — Propagation végétative de la Féverole (<i>Vicia faba</i>) à partir de fragments de tiges	225
<i>Communiqué.</i>	
A. MICKE. — Mutations induites et amélioration des plantes	231

CONTENTS

L. BLONDEL. — Compared action of gibberellins and annular incision on the fructification of the Clementine in Corsica	85
M. DURON, C. BRIAN. — Determination of substances similar to gibberellins and inhibitors in the Apple tree (<i>Malus pumila</i>). I. — Methodology	97
M. DURON, C. BRIAN. — Determination of substances similar to gibberellins and inhibitors in the Apple-tree (<i>Malus pumila</i>). II. — The study of some rootstock and varietal genotypes	113
H. LATERROT. — Selection for the resistance to <i>Phytophthora infestans</i> MONT., DE BARY in Tomato	129
R. WAGNER. — Genetic breeding in Vine	151
Ph. AURIAU, P. PLUCHARD, B. MASSERET. — Research on hybrid vigor in the Wheat plant. I. — Result of 1971-1972 and 1972-1973 trials	177
Claire DORÉ. — Clonal multiplication of Asparagus through <i>in vitro</i> culture : its use in breeding	201
Anne-Marie AUBRY, P. DUTUIT, H. THIELLEMENT, A. BERVILLÉ. — Vegetative propagation of Field Bean (<i>Vicia faba</i>) from the nodes of stem	225

Les Annales de l'Amélioration des plantes figurent dans Current Contents